

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTE DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITE DE PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

PAR

ANNA DAVID

soutenue le 21 décembre 1929, devant la commission d'examen

1^{re} THESE. — RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR UN HÉMA-
TOZOAIRE DU GENRE **LEISHMANIA**
(L. AGAMÆ A. DAVID).

2^e THESE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Président : MM. CAULLERY

Examineurs : PICARD

— : GUILLIERMOND

PARIS (V°)

LES PRESSES UNIVERSITAIRES DE FRANCE

49, Boulevard Saint-Michel, 49

1929



Digitized by the Internet Archive
in 2026

**RECHERCHES EXPERIMENTALES SUR
UN HEMATOZOAIRE DU GENRE
LEISHMANIA (L. AGAMÆ, A DAVID)**

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen C. MAURAIN, *Professeur*, Physique du globe.
Doyens honor. P. APPELL, M. MOLLIARD.

*Professeurs
honoraires*

A. JOANNIS.
H. LE CHATELIER.
H. LEBESGUE.
A. FERNBACH.
A. LEDUC.
E. HÉROUARD.

EMILE PICARD . Analyse supérieure et algèbre supérieure.
G. KÖNIGS . . . Mécanique physique et expérimentale.
E. GOURSAT . . Calcul différentiel et calcul intégral.
P. JANET . . . Electrotechnique générale.
F. WALLERANT . Minéralogie.
P. PAINLEVÉ . . Mécanique analytique et mécanique céleste.
G. BERTRAND . Chimie biologique.
M^{me} P. CURIE . Physique générale et radioactivité.
M. CAULLERY . Zoologie (Evolution des êtres organisés).
G. URBAIN . . Chimie générale.
Emile BOREL . . Calcul des probabilités et Physique mathém.
L. MARCHIS . . Aviation.
Jean PERRIN . Chimie physique.
RÉMY PERRIER . Zoologie (Enseignement P. C. N.).
H. ABRAHAM . . Physique.
M. MOLLIARD . Physiologie végétale.
E. CARTAN . . Géométrie supérieure.
L. LAPICQUE . . Physiologie générale.
E. VESSIOT . . Théorie des fonctions et théorie des transformations.

Professeurs . . .

A. COTTON . . . Physique générale.
J. DRACH . . . Application de l'analyse à la géométrie.
Charles FABRY . Physique.
Charles PÉREZ . Zoologie.
Léon BERTRAND. Géologie structurale et géologie appliquée.
R. LESPIEAU . . Théories chimiques.
E. RABAUD . . . Biologie expérimentale.
P. PORTIER . . . Physiologie comparée.
E. BLAISE . . . Chimie organique.
P.-A. DANGEARD. Botanique.
Paul MONTEL . Mécanique rationnelle.
P. WINTREBERT. Anatomie et histologie comparées.
O. DUBOSCQ . . Biologie maritime.
G. JULIA . . . Mathématiques générales.
A. MAILHE . . . Etude des combustibles.
L. LUTAUD . . . Géographie physique et géologie dynamique.
Eugène BLOCH . Physique théorique et physique céleste.
Henri VILLAT . Mécanique des fluides et applications.
Ch. JACOB . . . Géologie.
P. PASCAL . . . Chimie minérale.
Léon BRILLOUIN. Théories physiques.
V. AUGER . . . Chimie appliquée.
N. Astronomie.

E. PÉCHARD . . Chimie (Ens. P. C. N.).
M. GUICHARD . Chimie minérale.
A. GUILLET . . Physique.
G. MAUGUIN . . Minéralogie.
L. BLARINGHEM. Botanique.
A. MICHEL-LÉVY. Pétrographie.
A. DEREIMS . . Géologie.
A. DENJOY . . . Calcul différ. et int.
H. BÉNARD . . Physique (P. C. N.).
E. DARMOIS . . Physique.
G. BRUHAT . . Physique.
H. MOUTON . . Chimie physique.

L. JOLEAUD . . Paléontologie.
M. JAVILLIER . Chimie biologique.
A. DUFOUR . . Physique (P. C. N.).
F. PICARD . . . Zoologie (Evolution des êtres organisés).
ROBERT-LÉVY . Zoologie.
L. DUNOYER . . Optique appliquée.
A. GUILLIERMOND. Botanique (P. C. N.).
A. DEBIERNE . . Radioactivité.
M. FRÉCHET . . Calcul des probabilités et Phys. math.

A. PACAUD . . . Secrétaire . . .

SÉRIE A, N° 195

N° D'ORDRE : 220

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTE DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITE DE PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

PAR

ANNA DAVID

soutenue le 21 décembre 1929, devant la commission d'examen

1^{re} THESE. — RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR UN HÉMA-
TOZOAIRE DU GENRE **LEISHMANIA**
L. AGAMÆ A. DAVID).

2^e THESE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Président : MM. CAULLERY

Examineurs : PICARD
— : GUILLIERMOND

PARIS (V°)

LES PRESSES UNIVERSITAIRES DE FRANCE

49, Boulevard Saint-Michel, 49

1929



A la mémoire de mon grand-père M. SEGAL

A MON PERE

mon premier maître en science.

A MA MERE

A mon oncle, le docteur J. SEGAL

Chevalier de la Légion d'Honneur.

*dont l'aide me fût si précieuse,
affectueuse reconnaissance.*

A MA GRAND'MERE

A MON GRAND-PERE SHOUB DAVID

Fondateur des premières colonies sionistes de Galilée.

A MA GRAND'MERE J. SEGAL

toute ma tendresse.

A MES AMIS

hommage de mon affection.

A mon maître et président de Thèse,

M. le Professeur CAULLERY,

Professeur à la faculté des sciences
Membre de l'Institut.
Officier de la Légion d'Honneur.

*Hommage de profonde reconnais-
sance pour le grand honneur
qu'il m'a fait en acceptant la
présidence de ma thèse.*

A mon maître S. ADLER

Professeur à l'Université hébraïque de Jérusalem.

*qui m'a inspiré le sujet de cette
thèse et qui m'a guidé par ses
précieux conseils.*

Ma gratitude et mon admiration.

A mon maître,

M. le Professeur E. BRUMPT

Membre de l'Académie de Médecine.
Officier de la Légion d'Honneur.

Hommage respectueux.

A MES MAITRES

DE LA FACULTE DES SCIENCES DE PARIS

A MES MAITRES

DE L'INSTITUT PASTEUR DE PARIS

INTRODUCTION

On considère qu'à l'origine, les flagellés des Vertébrés étaient parasites du tube digestif des Insectes. Ces derniers étant ingérés par les Vertébrés insectivores, les Protozoaires ainsi introduits dans l'intestin ont évolué, par adaptations successives depuis le stade coprozoïque simple jusqu'au stade de parasites sanguicoles, passant par un stade intermédiaire de parasites intestinaux.

M. le Professeur Adler, Directeur du département de parasitologie à l'Université hébraïque de Jérusalem, m'avait proposé de vérifier expérimentalement cette théorie par l'étude de la faune intestinale et l'hémoculture des Vertébrés insectivores. Je pris comme premier sujet d'étude un lézard gris, dont j'ai pu me procurer un grand nombre dans la région de Tibériade (Basse Galilée, Palestine) à l'époque où j'ai commencé cette étude.

Dans le cours de mes recherches, je suis arrivée à mettre en évidence, chez ce lézard gris (*Agama stellio*), un flagellé parasite sanguin, dont j'ai étudié les caractères morphologiques, biologiques et sérologiques.

Ces caractères font de ce parasite une espèce nouvelle de *Leishmania* pour laquelle j'ai proposé le nom de *Leishmania agamæ* et qui fait l'objet du présent travail.

LES LEISHMANIAS

Les flagellés du genre *Leishmania* sont des Protozoaires appartenant à la classe des *Mastigophora*, sous-classe des *Zoomastigina*, ordre des *Protomonadida*, sous ordre des *Eumonadea*, famille des *Trypanosomidæ*.

Les *Leishmania* sont caractérisés par le fait de passer dans leur cycle évolutif par deux hôtes, l'un Vertébré et l'autre Invertébré. A l'encontre des *Trypanosomes* qui présentent dans leur cycle des formes *Leishmania*, *Leptomonas*, *Crithidia* et *Trypanosoma*, les parasites de ce genre, eux, ne possèdent que les formes *Leishmania* et *Leptomonas*.

La nature de l'hôte intermédiaire invertébré n'a pu, jusqu'à présent, être expérimentalement établie que pour le *Leishmania tropica*, agent du Bouton d'Orient, pour lequel le vecteur est un phlébotome (Ed. et Et. SERGENT, 1905, Ed. et Et. SERGENT, PARROT, DONATIEN et BEGUET, 1921, Adler et Theodor, 1925). Cependant, dans tous les cas, son existence est tellement évidente qu'elle a été prise comme caractère pour la définition de ce genre.

Les caractères purement morphologiques ne permettent pas de différencier en culture les flagellés du genre *Leptomonas* de ceux du genre *Leishmania* car dans les deux cas on ne rencontre que des formes *Leptomonas* et *Leishmania* seulement.

Les Flagellés du genre *Leptomonas* sont parasites des insectes et se transmettent d'un hôte à l'autre par l'intermédiaire de formes enkystées émises avec

les fèces et ingérées par les larves, tandis que pareil mode de transmission n'a jamais été observé pour ceux du genre *Leishmania*. De plus, contrairement aux premiers, qui ne passent que par un seul hôte, les derniers en ont obligatoirement deux.

Historique. — CUNNINGHAM (1885) paraît avoir été le premier à voir des parasites, que nous savons maintenant être des *Leishmanias*, dans le tissu d'un Bouton de Delhi. Cet auteur a pris des macrophages pour des amibes et les *Leishmanias* y inclus, pour des spores. FIRTH, qui revit les mêmes cellules parasitées, en 1891, proposa pour elles le nom de *Sporozoa Furunculosa*, dénomination qui n'a pu être conservée, parce qu'elle s'appliquait non aux parasites, mais aux macrophages qui les contenaient.

Les mêmes parasites furent retrouvés par MARCHAND en 1904 dans la rate d'un soldat allemand ayant servi en Chine et qui mourut après son retour en Allemagne; il les a interprétés comme étant des produits de dégénérescence des noyaux cellulaires.

LEISHMAN, en 1903, dans une note « *The possibility of the occurrence of Trypanosomiasis in India* », décrit des parasites qu'il avait trouvés trois ans auparavant dans un cas de « dum-dum fever ». Il leur trouve une ressemblance avec les formes rondes ou elliptiques que l'on voit post mortum dans les infections à trypanosomes.

La même année DONOVAN confirme ce fait.

LAVERAN et MESNIL, en examinant les préparations de Donovan, reconnaissent qu'il s'agit des parasites autonomes, voisins de *Piroplasma*, et leur proposèrent le nom de *Piroplasma donovani*. Mais c'est ROSS qui ensuite a donné à ces parasites le nom définitif de *Leishmania donovani*.

WRIGHT, en 1903, puis MARZINOWSKY et BOGROFF en 1904 retrouvent de nouveau ce type parasitaire, auquel ils donnent des noms variés.

ROGERS (1904), en mettant de la pulpe splénique infectée par des *Leishmania* dans une solution de nitrate de soude, a le premier obtenu des formes flagellées du type *Leptomonas*.

Ch. NICOLLE et SICRE (1908) retrouvent le même *Leptomonas* en cultivant des tissus d'un bouton d'Orient. NICOLLE (1908) obtient des *Leptomonas* en cultivant du liquide splénique d'un enfant atteint « d'anémie splénique infantile », et donne à ce parasite le nom de *Leishmania infantum*.

D'habitude, dans le sang et les organes des animaux infectés, ces parasites se présentent sous la forme de *Leishmania*, c'est-à-dire sous forme de corpuscules arrondis ou elliptiques, non flagellés, avec noyau, kinétoplaste et une vacuole éosinophile. Quelquefois, cependant, on dit observer aussi des formes *Leptomonas* — corps allongés, avec noyau central ou postérieur et kinétoplaste antérieur donnant naissance à un flagelle. (En réalité ces formes ne furent observées qu'une seule fois par WENYON chez un chien infecté expérimentalement avec des cultures de *L. Donovanii*).

Mais de règle, la forme *Leptomonas* est celle qu'on obtient dans les cultures des *Leishmania*, dans les hôtes intermédiaires (Insectes), et non dans les tissus et organes des animaux infectés.

Leishmania des lézards. — Les *Leishmania* des lézards ont attiré l'attention des chercheurs, depuis que Ed. et Et. SERGENT, LEMAIRE et SENEVET (1914) cultivèrent un *Leishmania* à partir du sang du gecko, *Tarentola mauritanica*. Ce *Leishmania* fut retrouvé par CHATTON en 1918 dans les mêmes conditions.

Marcel LÉGER, en 1918, isole le *Leishmania henrici* à partir du sang d'un lézard du genre *Anolis*, à la Martinique. Les *Leishmania* en question se trouvaient à la fois dans le sang et l'intestin de ce lézard. BAYON (1915) constata la présence des *Leishmania* dans le cloaque du Caméléon de Roben-Island (*Chameleo pumilus*) ainsi que dans celui du caméléon vulgaire (*Chameleo vulgaris*) en Egypte. WENYON, en 1921, retrouve des *Leptomonas* dans l'intestin du même animal, les cultures du sang restant négatives. Ce savant donne à ce parasite le nom de *Leishmania cameleonis*. MACKIE, CRUPTA et SWAMITH (1923) ont trouvé un *Leishmania* semblable au *Leishmania* de la tarente dans la circulation sanguine de l'*Hémidactylus gleadowii*. STRONG (1924) a montré l'existence d'un *Leishmania* dans l'intestin postérieur et le rectum du lézard *Cnemidophorus lemniscatus gagei* pour lequel il a proposé le nom de *Leishmania davidi*. Enfin, ADLER et THÉODOR, dans un récent travail, en 1929, signalent l'existence du *Leishmania ceramodactyli* mis en évidence par la culture du sang cardiaque du gecko *Ceramodactylus doriae*.

IDENTIFICATION DES DIFFERENTES ESPECES DE LEISHMANIAS ET HERPETOMONAS

Avant d'aborder l'étude du *Leishmania agamæ*, il me faut dire quelques mots sur les moyens et méthodes actuellement employés pour l'identification des espèces de parasites de ce groupe.

Dans les cultures de différents *Leptomonas* et *Leishmania* on ne constate pas de différences morphologiques suffisamment nettes pour pouvoir arriver à distinguer entre elles toutes les espèces de *Leishmania* actuellement connues.

La taille des individus n'est nullement caractéristique pour servir de base à la différenciation; il arrive même que différentes souches d'une même espèce présentent dans les cultures des formes ayant des tailles différentes. Ainsi, par exemple, au laboratoire de parasitologie de l'Université hébraïque de Jérusalem, une souche de *L. brasiliensis* de Londres présentait des individus ne dépassant pas 8 μ ; une autre de la même espèce, provenant du laboratoire de M. le Professeur BRUMPT de Paris, offrait des *Leptomonas* atteignant jusqu'à 17 μ de longueur.

Les caractères pathogéniques et la nature des lésions produites chez les animaux de laboratoire ne peuvent non plus être de grande utilité, car le *Leishmania donovani* qui produit uniquement des lésions viscérales chez l'homme, occasionne, dans certains cas, des lésions purement cutanées. Et avec le *Leishmania tropica*, cause du Bouton d'Orient, (infection locale et cutanée) on arrive à produire des lésions viscérales chez la souris lorsque l'inoculation est faite sous le péritoine.

De plus, les *Leishmania* les plus virulents pour l'homme et les animaux réceptifs arrivent à perdre leur pouvoir pathogène après passages en culture; c'est ainsi que le *L. tropica* isolé en culture par ADLER et THEODOR à partir d'un Bouton d'Orient, à Bagdad (1928), n'a montré aucun pouvoir infectant sur les souris employées comme animal réactif.

Le caractère de mobilité des *Leptomonas* en culture est d'une importance plus grande. On arrive à distinguer les Flagellés de la mouche domestique (*Herpetomonas muscarum*) et ceux des moustiques (*H. culicidarum*) d'avec les *Leishmania* de l'homme et du chien, le mouvement des premiers dans les cultures étant plus rapide et plus rectiligne que celui des derniers. Mais ce caractère n'est cependant pas suffisant pour distinguer les différentes espèces entre elles.

Un moyen important de différenciation des *Leishmania* mis en valeur par ADLER et THEODOR (1927), est celui du comportement et de la localisation des *Leishmania* dans le canal alimentaire des Phlébotomes nourris avec des cultures dans l'appareil de ADLER et THÉODOR (p. 33) à travers une membrane animale. Les *Leishmania* pathogènes pour l'homme et les animaux adoptent dans le Phlébotome une position antérieure, infestant l'intestin moyen et antérieur seulement et ne formant jamais de kystes. Par contre, les *Herpetomonas* parasites propres aux insectes, adoptent dans leur hôte spécifique une position *postérieure* avec nombreuses formes enkystées éliminées avec les selles qui, ingérées par les larves, propagent l'infection d'un hôte à l'autre.

NOGUCHI, en 1924, introduit la belle méthode de différenciation des espèces par voie sérologique. Cette méthode est fort intéressante et peut constituer une

bonne base pour l'établissement d'espèces, mais elle n'est cependant pas exempte de toute critique. Elle n'est valable qu'à condition que les souches de flagellés employées dans les expériences ne soient pas autoagglutinables, phénomène qui se produit avec certaines d'entre elles. De plus, il est indispensable de tenir compte des agglutinines de groupes présentes pour certaines espèces.

WAGNER et KOCH (1926) constatèrent des agglutinations croisées entre *L. tropica*, *L. brasiliensis*, *L. donovani* et *L. infantum*. ADLER et THÉODOR (1927) constatèrent le même fait, en expérimentant avec *L. infantum* et *L. tropica*, *L. tarentolæ* et *L. donovani*, *L. tropica* et *L. brasiliensis*. Toutes ces espèces produisent des coagglutinines. En se mettant à l'abri de ces causes d'erreur et lorsque l'agglutination croisée est complètement absente, on peut conclure avec certitude que les *Leishmania* étudiés appartiennent chacun à une espèce distincte.

NOGUCHI est arrivé ainsi à distinguer sérologiquement le *Leishmania tropica* du *L. brasiliensis* et à établir par la même méthode l'identité du *L. infantum* avec le *L. donovani*.

ADLER et THÉODOR (1926) ont pu par le même procédé identifier le *L. tropica* des lésions naturelles avec le *Leishmania* provenant des lésions expérimentales produites par inoculations des *Herpetomonas* des Phlébotomes infectés expérimentalement avec des cultures de la même provenance.

La méthode d'identification des différentes espèces de *Leishmania* et *Herpetomonas*, à l'aide des caractères des fermentations des hydrates de carbone ne donne guère de résultats satisfaisants.

NOGUCHI (1926) et KLIGLER, la même année, ont essayé d'appliquer cette méthode mais ne sont pas arri-

vés à la mettre au point. La valeur de cette méthode intéressante, mais encore insuffisamment perfectionnée, ne pourra être bien admise qu'après avoir étudié le comportement d'un très grand nombre de souches.

On voit qu'aucune des méthodes citées ne peut suffir à elle seule pour établir ou identifier une espèce, mais toutes combinées, elles offrent la possibilité d'établir les caractères et propriétés propres à chaque espèce.

Pour identifier les espèces de *Leishmania* il faut donc se baser à la fois sur les propriétés biologiques, sérologiques et la morphologie.

En se basant sur l'ensemble de tous ces caractères on arrive facilement, malgré toute la difficulté apparente, à distinguer les différentes espèces entre elles et à établir l'identité des différentes souches d'une même espèce.

LEISHMANIA AGAMÆ A. David

a. *Isolement et culture.* — En ensemencant du sang des lézards gris (*Agama stellio*) (1) — prélevé par ponction cardiaque avec une pipette Pasteur effilée — dans le milieu d'ADLER (2) (Locke-agar-sang), j'ai ob-

(1) *Agama stellio* (Linné).

Tête légèrement aplatie avec joues gonflées chez le mâle, narines latérales. Écailles supérieures de la tête lisses ou faiblement en carène. Occipital non élargi; les côtés de la tête ainsi que la nuque pourvus de nombreuses épines courtes, semblables à des écailles. Oreille découverte, un peu plus large que l'ouverture oculaire. Cou avec replis transversaux bien marqués, pas de poche gulaire. Corps très aplati avec un repli dorso-latéral distinct et replis longitudinaux sur les côtés. Repli transversal irrégulier sur la nuque. Région vertébrale avec écailles en carène irrégulières, mélangées avec d'autres élargies et presque lisses, le restant du dos avec de petites écailles mélangées à de larges écailles épars, sur les flancs, écailles en cône, épineuses et élargies. Écailles ventrales lisses.

Membres solides avec des doigts aplatis, écailles sur la face supérieure des membres, larges, fortement en carène et épineuses, troisième et quatrième doigts égaux, où le quatrième faiblement plus long. Cinquième doigt plus long que tous les autres.

Queue ronde, aplatie à la base avec écailles larges et épineuses arrangées en rangs.

Couleur généralement terne; olive, brun ou gris mélangés de noir. La couleur varie avec la lumière et la température.

Animal très agile, habitant des anciennes ruines ou des endroits rocheux dénommé *Hardoun* par les arabes, très commun en Egypte, Palestine et Syrie.

Longueur totale	284 millimètres
Tête	31
Largeur de la tête	30 —
Corps	83 —
Membres antérieurs	55 —
— postérieurs	85 —
Queue	170 —

(2) Pour ce milieu on prépare la solution suivante connue sous le nom de Locke dextrose :

500 cc.	Eau distillée
4 gr.	Chlorure de sodium NaCl
0,075	Carbonate de soude NaHCO ₃
0,12	Chlorure de calcium Ca Cl ₂
0,21	Chlorure de potassium KCl
0,1	Dextrose

tenu, après incubation de 7-16 jours, à 30°C des cultures d'un Flagellé du type *Leptomonas*. Les tubes, demeurés stériles après le 26^{me} jour, étaient considérés comme négatifs. La peau du Reptile étant très dure, j'ai pris soin de la percer au préalable, après badigeonnage à la teinture d'iode, avec une pointe métallique fine stérilisée à la flamme, et j'ai introduit à travers cet orifice la pipette effilée jusqu'à la cavité cardiaque. Le sang était aspiré à l'aide d'une petite poire en caoutchouc. Cette opération n'est guère fatale pour ces animaux, qui lui survivent tous, la quantité de sang prélevée étant petite.

Dès les premiers jours, lorsque la culture se montre positive, on y voit de nombreux flagellés très mobiles du type *Leptomonas* et des rosaces, formées par l'accolement de leurs flagelles, de 4,6 ou 8 de ces éléments. On observe aussi des corps arrondis non flagellés du type *Leishmania*.

La culture arrive à son plein développement en 3 jours, pour regresser ensuite : les rosaces deviennent rares, ainsi que les formes de division. Vers le 38^{me} jour, la plupart des parasites perdent leur mobilité, leurs flagelles et se désagrègent finalement en granules. Néanmoins ces cultures conservent leur vitalité pendant plus de deux mois et peuvent être repiquées avec succès.

Les cultures secondaires peuvent être faites, soit sur le milieu précédent, soit sur du Locke-agar-sérum, où on substitue à un cc. de sang de lapin, un 1/2 cc. de sérum frais du même animal. Ce dernier

dont on mélange 7 parties à une partie de gélose à 30 % dans du bouillon nutritif.

On distribue 4 cc. du mélange par tube à essai et au moment de s'en servir on ajoute à chaque tube 1 cc. de sang frais de lapin.

Ce milieu présente l'avantage d'être semi-liquide et facile à manier.

offre l'avantage de ne pas opacifier le milieu et de permettre de suivre macroscopiquement le développement des cultures. Les cultures secondaires poussent deux ou trois jours après l'ensemencement fait largement avec une pipette. On constate alors nettement que les parasites se développent dans la partie supérieure du milieu. Ils forment un ménisque homogène à concavité supérieure, opaque par rapport au milieu qui reste clair et transparent.

Les cultures secondaires présentent des formes actives pendant 20 à 30 jours, mais leur vitalité se conserve pendant deux mois.

Les cultures sur Locke-agar-sang paraissent conserver leur vitalité plus longtemps que les cultures faites en milieu Locke-agar-sérum.

Je crois devoir signaler ce fait intéressant : Au bout d'un certain nombre de repiquages sur Locke-agar-sérum, la croissance devient quelquefois lente et arrive même à s'arrêter. On peut alors y remédier en transplantant les parasites sur Locke-agar-sang, sur lequel ils récupèrent leur vitalité. En général, le milieu au sang me paraît plus favorable au développement du parasite.

Les cultures peuvent se développer sur ce milieu dont le pH varie de 6,8 à 7,8. Mais les cultures les plus riches sont celles dont le pH correspond à 7,2-7,4.

Elles sont très sensibles à l'action des bactéries qui, en les contaminant, empêchent complètement leur développement.

Les parasites poussent également très bien sur milieu N. N. N. en boîtes de Pétri et tubes inclinés. Ils s'y développent fort bien, donnent des cultures riches le 3^{me} ou 4^{me} jour après l'ensemencement.

Dans ces tubes, ils abondent surtout dans l'eau de condensation et s'étendent ainsi à la surface du milieu. Sur plaques, ils forment des colonies irrégu-

lières, en surface, et entourent la zone d'ensemencement. Sur ce milieu les formes du type *Leishmania* sont toujours plus nombreuses que dans les cultures sur milieu semi liquide d'Adler. La vitalité des cultures persiste pendant plus de deux mois.

J'ai essayé de cultiver les parasites en présence des bactéries intestinales du lézard infesté ayant servi à l'isolement du Flagellé. Pour ce faire, j'ai lavé le cloaque de cet animal avec une solution physiologique stérile; j'aiensemencé sur du bouillon nutritif et, après 24 heures, j'ai ajouté une anse de ce bouillon à une culture de Flagellés riche et bien développée. Les bactéries y pullulent naturellement très vite et, au bout de deux jours au plus, il ne reste plus trace de Flagellés actifs. Ils sont tous immobiles et morts, tandis que des tubes témoins continuent à donner de bonnes cultures très riches.

J'ai égalementensemencé d'abord le milieu avec les bactéries en question et ensuite avec les Flagellés, et n'ai pu observer le moindre développement de ces derniers, qui ont parfaitement bien poussé sur des milieux exempts de bactéries.

Jamais l'examen microscopique, pas plus que la culture sur milieu favorable du contenu intestinal des lézards dont le sang donnait des cultures positives, ne m'a révélé l'existence de Flagellés.

Pour éviter les causes d'erreur provenant de ce que ces animaux se nourrissent d'insectes parasités par des *Herpétomonas* et peuvent ainsi présenter ces flagellés à l'examen du contenu intestinal, j'ai nourri ceux qui servaient à mes expériences avec des morceaux de viande de boucherie que je leur introduisais dans le gosier, à l'aide d'une pince. Les animaux n'acceptent pas volontiers cette nourriture, mais en les y forçant, elle leur est bien suffisante lorsqu'on l'administre deux fois par semaine.

En hiver, les lézards peuvent vivre sans nourriture pendant un ou deux mois; mais dès que la saison chaude arrive il est indispensable de les alimenter.

A l'examen direct du sang, des frottis d'organes et de la moelle osseuse des animaux infectés, je n'ai vu qu'une seule fois, dans une préparation de sang en goutte épaisse colorée par une des dérivées de la méthode de Romanowsky et après une recherche très minutieuse, *des corps leishmaniens typiques englobés dans un leucocyte mononucléaire.*

Les parasites étaient au nombre de 19 et avaient la taille et tous les caractères morphologiques des *Leishmania*.

Certains animaux parasités furent gardés à la température du laboratoire qui était de 14°C. pendant le jour, et beaucoup inférieure pendant la nuit. Les cultures du sang du cœur des mêmes animaux, refaites après un séjour de trois semaines et un mois au laboratoire, s'étaient montrées négatives ainsi que les examens directs du sang et des frottis d'organes à l'autopsie.

D'autres, gardés à l'étuve à 30° C. hébergeaient des parasites dans leur sang pendant toute leur vie, et je n'ai jamais pu constater dans ces conditions une guérison spontanée.

b. *Fréquence de l'infection des lézards en diverses saisons.* — Les examens effectués ont donné les résultats suivants :

Mois	Animaux examinés	+	—	douteux (Cultures contaminées)	%
Novembre ...	4	1	2	1	25 %
Décembre ...	7	2	5	0	28,6
Février	52	5	38	9	9'6
Avril	16	1	15	0	6
Mai	9	2	5	2	22
Juin	18	0	17	1	0
Juillet	34	0	34	0	0
Totaux	140	11	116	13	

Le nombre total d'animaux examinés est de 140 parmi lesquels j'ai trouvé 10 porteurs de parasites, ce qui fait une moyenne actuelle de 7 % d'animaux infectés (1).

Comme on le voit dans ce tableau, tous les examens effectués au mois de Juin et de Juillet ont tous été négatifs. Je dois ajouter que dans la région de Tibériade, où ces animaux ont été capturés, la température pendant cette période de l'année est très élevée (elle atteint, et parfois même dépasse, 40° C. à l'ombre).

Je signale en passant que l'examen du sang de 30 animaux capturés dans les environs immédiats de Jérusalem, effectué en différentes saisons de l'année, n'a jamais révélé l'existence du parasite (Climat tempéré, plutôt frais).

(1) Ce pourcentage est sans doute inférieur au pourcentage vrai si l'on tient compte des animaux dont les cultures ont été contaminées par des bactéries.

MORPHOLOGIE

Comme on l'a vu plus haut, ces parasites se présentent en culture sous forme d'organismes flagellés très mobiles, du type *Leptomonas*. Leur taille varie de 2 à 15 μ de long (flagelle non compris) et de 1 à 3 μ de large. Le flagelle est au moins aussi long que le corps, mais dépasse très souvent celui-ci en longueur. On rencontre également des formes rondes non flagellées (2-3 μ de diamètre) dans la proportion de 2-3 % les premiers jours et jusqu'à 11 % et plus à partir du 12^{me} jour de la culture. Le noyau de ces corps leishmaniens est accolé à la membrane cellulaire et leur kinétoplaste est bien visible à côté de celui-ci. Il en résulte l'aspect d'un élément à double noyau.

Les formes *Leptomonas* présentent un noyau central ou postérieur, avec kinétoplaste antérieur, où prend naissance le flagelle. Entouré de périplaste le cytoplasme est clair et de structure alvéolaire. Des vacuoles, et spécialement une plus grande que les autres, située près du kinétoplaste, sont toujours présentes. On rencontre certaines formes très vacuolisées, mais celles-ci sont anormales. Elles sont assez nombreuses en culture de 12-17 jours, sur milieu N. N. N. La différenciation en ecto et endoplasme n'est pas apparente.

Le noyau est composé d'un gros karyosome central, séparé de la membrane nucléaire par une zone annulaire claire.

Pendant les deux premiers jours, la culture présente de nombreuses rosettes de 2, 4 ou 8 éléments et de larges formes de division atteignant jusqu'à 5-6 μ de largeur sur 7-8 μ de longueur. Par le fait même que la division commence par la partie antérieure flagellée du corps, ces derniers éléments présentent un double flagelle et kinétoplaste et un noyau unique. Lorsque la culture atteint son plein développement, vers le 5^{me} ou 6^{me} jour, ces formes disparaissent et on n'y voit alors que des individus présentant la longueur maxima de 15-17 μ . Néanmoins tous les types de flagellés, depuis les corps leishmaniens jusqu'à ces formes longues sont représentés.

Au fur et à mesure que la culture avance en âge, les formes longues disparaissent et sont remplacées par des formes courtes, rondes et granuleuses.

Dans les cultures secondaires le processus d'évolution est le même. Le troisième jour après l'ensemencement on voit de nombreuses rosettes et formes larges de division; les 4^{me}, 5^{me} et 6^{me} jours les formes les plus longues font leur apparition et les 10^{me}, 12^{me}, 13^{me}, etc..., elles deviennent de plus en plus courtes.

Seulement les parasites dans les cultures secondaires sont en général plus longs que ceux des cultures directes, et leur taille moyenne va en augmentant avec les générations successives. Au 4^e repiquage, on trouve des formes très longues, ayant jusqu'à 28 μ de long. Ces *Leptomonas* sont très minces, avec noyau central ou postérieur et flagelle aussi long que le corps et souvent même le dépassant. Ces formes sont très intéressantes, car elles n'ont été rencontrées que dans les cultures de *Leishmania ceramodactyli* par ADLER et THÉODOR (1929). Cependant, celles que signalèrent ces auteurs sont encore plus longues et atteignent de 22 à 35 μ . Je n'ai jamais vu dans mes

culture de *Leishmania* des Lézards, des formes ayant ces dimensions.

Cependant ces formes longues (25-28 μ) ne se rencontrent pas dans toutes les souches provenant des différents lézards infectés. Certaines d'entre elles présentent même à partir du 4^{me} repiquage des parasites ayant 16-17 μ de long au plus. C'est le cas d'une souche dont je me suis servie pour faire des mensurations journalières portant sur 4 générations.

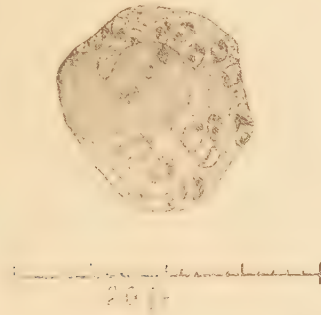
Le nombre d'individus mesurés après coloration par la méthode de Romanowsky était de 500 par jour. Pour avoir la taille exacte, il aurait évidemment mieux valu faire les mensurations à l'état vivant, mais celles-ci sont impraticables dans ces conditions, étant donné la grande mobilité de ce *Leptomonas*. Les mensurations n'ont pu être continuées pendant plus de 10 jours pour chaque génération, car, vers le 10^{me} jour, les formes mesurables sont peu nombreuses, la plupart se colorent mal, par suite d'un début de dégénérescence.

Pour les graphiques la longueur des *Leptomonas* est portée en abscisses et le pourcentage d'individus de chaque taille en ordonnées. Ces graphiques donnent une image nette de ce qui se passe pour la variation de taille des individus pendant la durée de la culture. On voit que presque toutes les courbes présentent deux clochets correspondant à deux types moyens dont la longueur change avec l'âge de la culture. Il y a toujours une forme grande (7-8 μ) et l'autre petite (3-4 μ) qui prédominent.

Je n'ai jamais rencontré dans les cultures de formes avec membrane ondulante.

Les parasites rencontrés une seule fois dans un leucocyte polynucléaire d'un lézard, étaient au nombre

de 19, comprimés latéralement de 1 à 1,5 μ de large sur 1,5 à 2,5 μ de long. Ils avaient la constitution typique des *Leishmania* et présentaient les caractères morphologiques typiques du groupe.



Leucocyte mononucléaire avec corps leishmaniens.



Quelques formes en culture :

- 1. — Forme de division.
- 2, 3, 4. — Formes de première culture.
- 5, 6. — Rosaces.
- 7. — Longue forme dans une culture de 4^e repiquage.

PROPRIETES BIOLOGIQUES

Action de la température. — Comme on l'a vu, la température optima pour le développement du parasite est celle de 30°C.

A 37°C., les cultures mettent 2 à 3 jours pour se montrer positives. Les formes des Flagellés qu'on y voit sont globuleuses, leur mobilité est très grande, on y observe de nombreuses rosettes et de longs *Leptomonas* rares; ces derniers sont plus minces que ceux observés dans les cultures à 30°C. 4 jours après l'ensemencement l'aspect est déjà celui d'une vieille culture de un mois à 30°C.; elles ne conservent leur vitalité que pendant 20 jours; repiquées après 23 jours, elles ne donnent plus de résultats positifs.

A 22°C., température généralement employée pour la culture des organismes de ce groupe, la culture se fait, mais la croissance est très lente et pauvre; beaucoup de tubes restent stériles, surtout après le deuxième ou troisième repiquage.

En chauffant des cultures pendant une demi-heure à 45°C., elles conservent parfaitement bien leur vitalité et peuvent être réensemencées avec succès; cependant la mobilité des individus devient très faible et s'arrête même complètement. On ne rencontre qu'un individu mobile par 9 ou 10 champs microscopiques.

Un chauffage d'une demi-heure à 50°C. est fatale à ces parasites. La température mortelle semble donc située entre 45°C. et 50°C.

La résistance au froid est par contre extrême. Des

tubes ensemencés et mis à la glacière (0° environ) pendant plus de deux semaines donnent de belles et riches cultures d'aspect tout à fait normal lorsqu'elles sont replacées à l'étuve à 30°C., seulement elles mettent alors plus de 4 jours pour se développer.

J'ai refroidi des cultures à —18°C, —20°C pendant 4 heures. Les parasites résistent très bien; leur mobilité même reste grande; les repiquages donnent de très bons résultats et ils ne semblent avoir souffert en rien. Je n'ai malheureusement pas pu produire un froid plus intense et n'ai pu voir à quel degré de refroidissement ils seraient tués.

Influence du pH. — J'ai fait des cultures sur des milieux dont le pH s'étend depuis 6,6 jusqu'à 8. Comme indicateur je me suis servie du rouge de phénol incorporé au milieu et j'ai fait la comparaison à une échelle colorimétrique. Dans tous ces milieux, les parasites se développent, mais beaucoup moins bien et plus lentement sur ceux dont le pH est de 6,6 à 7 que sur ceux de pH 7 à 8. Le pH le plus favorable est 7,2-7,4. Quelques tubes de 6,6 restèrent stériles.

Dans toutes les cultures, il se produit une très forte acidification du milieu. Ceux dont le pH correspondait à 8 au moment de l'ensemencement, montrent un pH de 6,8 et 6,6 deux ou trois jours après le début de la croissance. Au bout d'une semaine, le milieu est très acidifié et atteint le pH 6 au moins. A l'analyse chimique du milieu de ces cultures, on ne trouve que de l'acide lactique et c'est cet acide qui fait virer l'indicateur.

L'acidification est visible les premiers jours dans la zone de croissance seulement; la partie inférieure, dans laquelle ne poussent pas les parasites, s'acidifie peu et sa teinte ne change presque pas; mais, après

10 à 12 jours, le milieu s'acidifie sur toute la hauteur du tube, néanmoins il y a toujours une teinte plus rougeâtre dans le fond.

La croissance des parasites est gênée par l'acidification; c'est pourquoi, après le 10^{me} jour, lorsque cette dernière devient intense, les parasites commencent à régresser. Dans les milieux acides, ce phénomène débute très tôt et l'aspect des cultures sur milieu de pH 6,6 ou 6,8, cinq jours après l'ensemencement, est analogue à celui de vieille culture sur milieu de pH 7,2 ou 7,4.

Le raccourcissement des parasites observé dans les cultures, au fur et à mesure qu'elles avancent en âge et s'acidifient, semble être en relation directe avec le changement du pH du milieu.

Sensibilité à l'action des bactéries. — Comme je le mentionnais plus haut, ces Flagellés, comme tous les autres du genre *Leishmania*, sont extrêmement sensibles à la présence des bactéries, des champignons, spores et en général de tout autre microorganisme. Dans les cultures comme chez les Insectes, le milieu doit être complètement stérile. Lorsque les cultures arrivent à être contaminées par des microbes, toute vie des Flagellés disparaît en un temps très court.

Cependant je suis arrivée à cultiver pendant plus de 10 jours le *Leptomonas* isolé du sang de Léopard avec un streptocoque, mais je n'ai pu conserver la culture mixte plus longtemps et les repiquages m'ont donné une culture pure de streptocoques, sans trace de flagellés. Ce streptocoque a dû s'introduire dans la culture au moment où j'ai débouché le tube. Je l'ai isolé, mais n'ai pu conserver à nouveau, des cultures des Flagellés ensemencés avec ce coccus pendant plus de un ou deux jours.

Hémolyse du milieu. — Les cultures sur Locke-agar-sang présentent, après 7 jours d'incubation à 30°C, une hémolyse totale du milieu. Le milieu semi solide mélangé à du sang de lapin, qui est opaque avant l'ensemencement, devient à la suite du développement des parasites, tout à fait transparent. L'hémolyse commence vers le 5^{me} jour, d'abord dans la zone de croissance seulement, pour s'étendre ensuite en profondeur, et devient totale vers le 7^{me} jour. Des tubes témoins non ensemencés, conservés également à l'étuve à 30°C, mettent 14 jours pour présenter le même phénomène.

Malgré le fait que des tubes témoins du même milieu (Locke-agar-sang) non ensemencés, présentent également, mais beaucoup plus tardivement, une hémolyse totale des globules rouges qui y sont incorporés, j'ai cru devoir me rendre compte si l'hémolyse précoce produite dans les cultures n'était pas due à la production d'une hémolysine.

Je me suis servie pour ce fait, d'une culture sur locke-agar-sérum de 7 jours, longuement et énergiquement centrifugée et, avec le liquide surnageant qui, à l'examen microscopique, s'est montré exempt de *Leptomonas*, j'ai institué l'expérience classique d'hémolyse avec une suspension de globules rouges de mouton à 5 % dans du sérum physiologique.

Les résultats furent complètement négatifs.

L'hémolyse précoce des cultures est donc, selon toute probabilité, due aux modifications physico-chimiques (production d'acide lactique) du milieu apportées par la croissance des parasites. Mais il ne faut pas pour cela conclure qu'il n'existe pas d'hémolysine, car nous savons que même dans les cas où son existence est évidente, on n'arrive pas toujours facilement à la démontrer.

EVOLUTION DES PARASITES CHEZ LES PHLEBOTOMES

Pour étudier comment se comportaient les parasites dans le tube digestif des Phlébotomes, j'ai nourri ces derniers avec des cultures à travers une membrane animale. J'ai employé l'appareil d'ADLER et THÉODOR qui est commode et facile à confectionner.

Voici la description de ce dispositif :

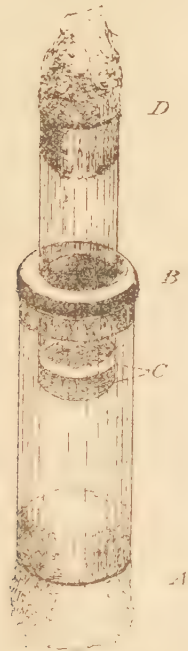
Un cylindre de verre, de 5-7 cm. de long et de 3 cm. de diamètre, a l'une de ses ouvertures, A, bouchée par un tampon d'ouate et l'autre, B, hermétiquement fermée par une rondelle de liège au centre de laquelle est pratiqué un orifice permettant l'introduction d'un second tube en verre de 1,5 à 2 cm. de diamètre et de 5-7 cm. de long. L'ouverture de l'extrémité de ce dernier tube C plongeant dans le cylindre à plus grand diamètre est recouverte par une membrane animale (1), fixée soigneusement au pourtour du tube, avec une bandelette de papier gommé. L'extrémité opposée, D, est, comme celle du gros cylindre, bouchée par un tampon d'ouate.

L'appareil est stérilisé avec de l'éther sulfurique qui est introduit dans le cylindre à petit diamètre, jusqu'au tiers de sa hauteur environ. On imbibe également d'éther le tampon bouchant le gros cylindre.

On attend le temps nécessaire à la complète évaporation du liquide, et, lorsque toute trace de celui-ci a disparu, l'appareil est pratiquement stérile et peut servir à l'expérience.

(1) Cette membrane animale consiste soit en une peau de lapin soigneusement rasée et desséchée, soit de préférence en peau de vésicatoire (pellicule épidermique détachée d'une ampoule de vésication de la peau humaine).

On prend une culture riche en Flagellés, on la lave dans du sérum physiologique stérile, en centrifugeant énergiquement deux ou trois fois pour la débarrasser autant que possible du milieu. A cette émulsion très riche en parasites, on ajoute quelques gouttes de



Appareil de Adler et Théodor.

sang inactivé de lapin, pour donner à la suspension des parasites une coloration rouge permettant de distinguer les Phlébotomes qui s'en nourrissent. On verse stérilement, dans le petit tube de l'appareil, 2 cc. environ de l'émulsion ainsi préparée; on introduit des Phlébotomes dans le cylindre extérieur; on place le tout à l'étuve à 30°C., pour permettre à ces derniers de se nourrir en piquant à travers la membrane, ce que ces insectes font volontiers. On trouve en effet,

au bout de 2 à 4 heures, jusqu'à une proportion de 80 à 90 % d'entre eux gorgés de culture. On peut estimer approximativement la quantité de parasites ingérés par chaque Phlébotome, en comptant le nombre de ces parasites inclus dans 1 cc. d'émulsion et en sachant que chaque Phlébotome, après un repas complet, en a absorbé $1/10$ de mmc. en moyenne.

Les Phlébotomes ainsi nourris sont mis en observation dans des tubes à essai secs et propres, dans l'étuve à 30°C; les tubes sont bouchés d'un tampon de coton que l'on humecte tous les jours avec deux ou trois gouttes d'eau, pour entretenir un état hygroscopique suffisant, indispensable pour la vie de ces insectes (1). Il faut bien prendre soin de ne pas laisser l'eau pénétrer à l'intérieur du tube, sans quoi les Phlébotomes se colleront par leurs ailes à la paroi du tube et mourront.

Chaque fois qu'un individu vient de mourir, on le dissèque, à l'aide d'aiguilles fines et on cherche à suivre au microscope le sort des flagellés ingérés. La plupart montrent alors une infestation intense par des *Leptomonas* dans le tube digestif. C'est la localisation de cette infestation dans l'intestin qui m'a particulièrement intéressée et que je cherchais à fixer par ces expériences, car nous savons qu'elle peut servir de critérium à l'identification des espèces de *Leishmania*.

(1) Pour les maintenir en vie plus de 3 jours après le premier repas, on continue à les nourrir en les faisant piquer des hommes une fois tous les 3-4 jours.

TABLEAU I

18 phlebotomes nourris le 10/3/29
sur une émulsion de 500 Flagellés par 0,1 mmc.

N°	Mort et disséqué le	Résultats de la dissection.
1	12/3/29	Négatif
2	13/3/29	Corps desséché, dissection impraticable.
3	13/3/29	— — — — —
4	13/3/29	Nombreux flagellés dans l'intestin moyen, rien dans l'intestin antérieur ni posté- rieur.
5	13/3/29	Corps trop sec, dissection impraticable.
6	13/3/29	Négatif
7	13/3/29	Corps trop sec, dissection impraticable.
8	13/3/29	Contaminé par de nombreuses bactéries.
9	13/3/29	Infection intense de l'intestin moyen et postérieur, nombreuses formes attachées par le flagelle aux cellules épithéliales et aux parois chitineuses.
10	13/3/29	Nombreux parasites dans l'intestin moyen seulement.
11	13/3/29	Nombreux parasites dans l'intestin moyen seulement.
12	15/3/29	Corps desséché, dissection impraticable.
13	15/3/29	Nombreux flagellé dans l'intestin moyen et postérieur.
14	15/3/29	Nombreux flagellé dans l'intestin moyen et postérieur.
15	15/3/29	Corps desséché, dissection impraticable.
16	15/3/29	Nombreux flagellé dans l'intestin moyen et postérieur.
17	15/3/29	Nombreux flagellé dans l'intestin moyen et postérieur.
18	15/3/29	Nombreux flagellé dans l'intestin moyen et postérieur.

TABLEAU II

17 *Phlébotomes* nourris le 19/3/29
sur une émulsion de 700 *Flagellés* par 0,1 mmc.

N°	Mort et disséqué le	Résultats de la dissection.
1	20/3/29	Infestation intense de l'intestin moyen et postérieur, quelques parasites libres dans l'intestin antérieur.
2	20/3/29	Infestation intense de l'intestin moyen et postérieur, quelques parasites libres dans l'intestin antérieur.
3	20/3/29	Infestation intense de l'intestin moyen et postérieur, quelques parasites libres dans l'intestin antérieur.
4	20/3/29	Infestation intense de l'intestin moyen et postérieur, nombreux flagellés attachés aux parois.
5	20/3/29	Corps desséché, dissection impraticable.
6	21/3/29	Nombreux flagellés attachés aux parois de l'intestin moyen, quelques formes libres dans le tube de Malpighi.
7	21/3/29	Corps desséché, dissection impraticable.
8	21/3/29	Masses de parasites dans l'intestin moyen et postérieur.
9	21/3/29	Très forte infestation de l'intestin moyen et postérieur, quelques formes libres dans l'intestin antérieur.
10	23/3/29	Peu de parasites dans l'intestin moyen et postérieur.
11	23/3/29	Intestin moyen seulement.
12	23/3/29	Contaminé par des bactéries.
13	23/3/29	Intestin moyen seulement.
14	23/3/29	Négatif.
15	23/3/29	Infestation intense de l'intestin moyen et postérieur, quelques formes libres dans l'intestin antérieur.
16	23/3/29	Intestin moyen seulement, infestation intense.
17	23/3/29	Intestin moyen seulement, infestation intense.

Il ressort de ces tableaux que les flagellés isolés du sang des lézards gris, se localisent le plus souvent dans la région *postérieure* de l'intestin du *Phlébo-*

tome. Ce n'est que dans les cas d'infestation très intense que l'on rencontre aussi des parasites dans l'intestin antérieur; ceux-ci sont alors toujours également présents et en beaucoup plus grand nombre dans l'estomac et l'intestin postérieur, où ils sont accolés aux parois tandis, que les parasites rencontrés dans l'intestin antérieur sont presque toujours libres et rarement attachés aux cellules intestinales; leur présence dans cette partie du tube digestif doit donc être considérée comme accidentelle et dûe, à la grande abondance des flagellés dans le canal alimentaire. Ces flagellés se différencient du *Leishmania tarentolæ*, qui adopte dans le Phlébotome une position *antérieure* typique, mais se rapprochent des *L. ceramodactyli* qui, eux aussi, d'une façon encore plus constante, adoptent une position *postérieure*, avec tendance également à devenir antérieure dans les cas d'infestation intense.

Les premiers parasites observés dans l'intestin moyen et postérieur sont longs et étroits; ils apparaissent 2-3 jours après le repas infectant et sont attachés à la paroi endothéliale de l'intestin moyen ou à la substance chitineuse de l'intestin postérieur.

On trouve aussi dans l'intestin postérieur des formes trapues et épaisses, que l'on rencontre jusqu'au rectum et aux papilles rectales. Beaucoup d'entre elles sont attachées à la paroi chitineuse par leur flagelle. Toutes proviennent probablement des longues formes présentes dans l'intestin moyen le 2^{me} et le 3^{me} jour de l'infestation. La présence de kystes n'a jamais été constatée dans aucune partie du canal alimentaire.

L'infestation des Phlébotomes a été également tentée en les nourrissant sur des lézards parasités. Les insectes piquent très difficilement ces animaux,

étant donné leur peau dure; c'est seulement autour des orbites et derrière les oreilles que j'ai vu quelquefois l'un d'entre eux se gorger de sang. Sur 34 femelles de *Phlébotomes papatasi*, 4 seulement se sont gorgées après un contact de 6 heures avec le lézard et aucun d'entre eux ne s'est montré positif à la dissection effectuée 3-4-5 jours après le repas.

Tous les Phlébotomes ayant servi à ces expériences provenaient des élevages du laboratoire du Docteur ADLER, au département parasitologique de l'Université hébraïque à Jérusalem, et appartenaient tous à l'espèce *papatasi*.

REACTIONS SEROLOGIQUES DU *LEISHMANIA AGAMÆ*

Le sérum d'un être vivant ayant reçu un antigène quelconque (cellules ou bactéries), présente au bout de quelque temps le pouvoir spécifique d'agglutiner in vitro ce même antigène. Ce phénomène est couramment employé pour l'identification des agents pathogènes.

On peut réaliser l'agglutination soit microscopiquement; en mélangeant une goutte de culture avec l'antisérum correspondant, y observant sous le microscope, la formation des amas des éléments libres de la culture. Soit macroscopiquement; mélangeant culture et antisérum dans des tubes étroits, où, après un court séjour à l'étuve de 37° se forment des amas, tombant au fond des tubes, le liquide surnageant devenant clair. Soit enfin, en faisant cultiver les germes à étudier dans un milieu additionné d'antisérum correspondant, où, au lieu de pousser normalement, la culture s'agglutine au fur et à mesure de son développement.

C'est ce dernier procédé qui convient le mieux pour la mise en évidence du phénomène d'agglutination chez les *Leishmanias*. En effet, les *Leishmania*, semencés sur milieu à l'antisérum, au lieu de former à la partie supérieure du tube, une culture homogène et blanchâtre, comme cela se présente sur milieux ordinaires, produisent de petits amas isolés d'individus agglutinés.

J'ai obtenu un sérum agglutinant pour le *Leishmania agamæ*, en employant la méthode de NOGUCHI : Des lapins étaient inoculés dans la veine marginale de l'oreille, avec des cultures vivantes, jeunes (3-4

jours) et riches, sur Locke-agar-sérum. Les injections furent pratiquées à 4 reprises, de 4-5 jours d'intervalle, avec des doses croissantes de 0,5 à 2 cc. de culture. Le sang des lapins ainsi préparés fut prélevé par ponction cardiaque 10 jours après la dernière inoculation et le sérum obtenu après centrifugation éprouvé quant à son pouvoir agglutinant pour le *Leishmania* employé comme antigène.

Il est rare que dans ces conditions opératoires, des lapins ne produisent un sérum actif contre le *Leishmania* employé. La préparation des lapins ainsi pratiquée, avec le *Leishmania agamæ*, était toujours suivie de succès.

Il est indispensable de prendre certaines précautions au moment des injections. Les cultures employées doivent être jeunes et ne point contenir de grumeaux ni de particules solides d'aucune sorte. Autrement, on risque de provoquer la mort de l'animal par embolie.

L'aspect des cultures sur milieu à l'antisérum est très caractéristique, l'agglutination est très apparente et de nature macroscopique (Planche I LA/A); de plus, au microscope, on ne voit que des groupes de flagellés accolés les uns aux autres par leurs flagelles. Les premiers jours de la culture, on peut constater de nombreux individus isolés et d'aspect normal, mais, au bout de deux semaines et plus, ceux-ci se raréfient et l'agglutination devient globale. Cependant l'on rencontre dans les cultures de tout âge des flagellés isolés, libres et mobiles.

Toutes les souches de *Leishmania agamæ* étaient agglutinées par le sérum préparé avec l'urodontocelles. Parmi les différentes souches isolées de différents lézards, il n'y en avait qu'une seule qui présentait le phénomène d'autoagglutination; elle fut naturellement exclue de toute expérience avec antisérum.

La morphologie des individus ayant poussé sur mi-



Fig. 1. — Masse syncytiale de *L'agame* cultivé sur milieu à l'antisérum correspondant.

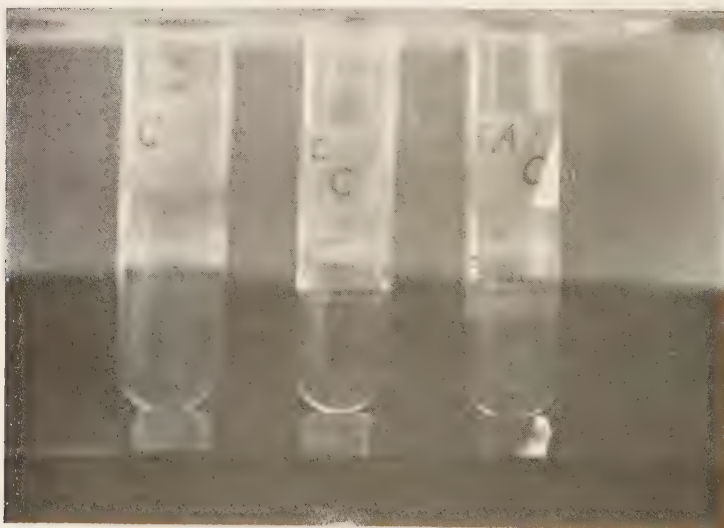


Fig. 2. C. L. Ceramodactyli sur sérum normal.

C/C.	—	—	anti ceramodactyli.
S A/C.	—	—	anti agame.

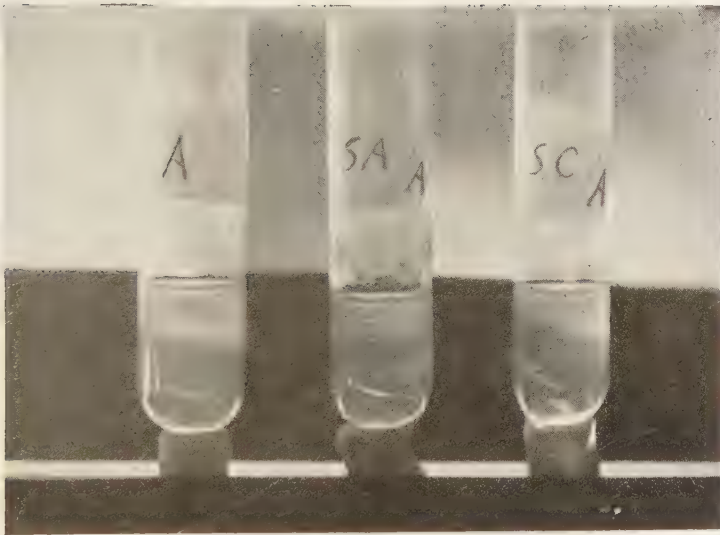


Fig. 3. A. L. Agamæ sur sérum normal.
 S A/A. L. — — anti agamæ.
 S C/A. L. — — anti ceramodaetyli.

lieu au sérum préparé est profondément modifiée. Dans les cultures âgées de deux semaines et plus, on trouve des corps leishmaniens de forme irrégulière et de très grande taille. Ces formes géantes, par leur rassemblement, forment même souvent une masse syncytiale sans démarcations individuelles; elles atteignent jusqu'à 22-25 μ de diamètre (Planche I, Fig. 1). La vacuole voisine du blépharoplaste est très distendue et occupe presque toute la cellule, ne laissant quelquefois qu'un mince anneau de protoplasme périphérique. Ces grandes formes sont très instructives pour l'étude de la vacuole qui, chez les Flagellés normaux, n'atteint pas plus de 0,5 μ de diamètre. ADLER et THÉODOR (1929) en ont tiré bon parti dans l'étude de *Leishmania ceramodactyli* cultivés sur milieu à l'antisérum et qui présente les mêmes altérations cytoplasmiques que les *Leishmania agamæ* dans des conditions analogues. Ces auteurs ont fait à ce sujet des observations cytologiques fort intéressantes, que j'ai pu refaire à mon tour sur le *Leishmania* du lézard gris.

On constate à l'état frais que la vacuole présente une structure vésiculaire avec une paroi bien définie, contenant un liquide clair et hyalin dans lequel sont animées d'un mouvement brownien de petits granules de toutes sortes. On y trouve aussi de gros corpuscules comparables à ceux que l'on rencontre dans le protoplasme, mais ils ne sont point aussi mobiles dans ce dernier, étant donné sa viscosité plus grande que celle du liquide vacuolaire. La vacuole ne semble point être contractile, des granules passent à travers sa paroi dans le protoplasme; ces granules paraissent être secrétées à la périphérie même de celle-ci.

Même les formes en apparence normales ayant poussé sur du sérum préparé, présentent à l'examen attentif une certaine modification cellulaire. La vacuole qui, dans les flagellés normaux, est située au

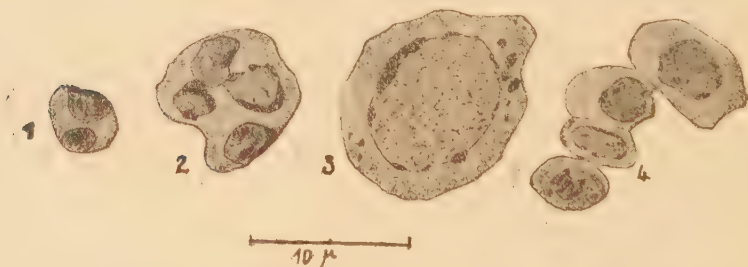
voisinage du blépharoplaste, est très proche de celui-ci dans les individus cultivés sur antisérum et très souvent même ces deux éléments semblent se confondre.

La vacuole ne contient pas de glycogène.

Des masses de ces *Leishmania* hypertrophiés formant un syncytium peuvent cependant conserver leurs flagelles constamment agités, sans causer pour cela ni déplacement, ni mouvement du corps. On voit quelquefois de ces grands groupes à Flagellés déformés prenant un aspect des plus bizarre et ne ressemblant guère à des Flagellés. Un observateur non averti et non habitué à ces *Leishmania* géants et irréguliers sera réellement embarrassé pour en faire le diagnostic. La présence du flagelle constamment mobile peut cependant venir en aide.

On rencontre dans ces cultures des stades de division ayant abouti à des individus biflagellés et possédant deux vacuoles.

Tous ces individus présentent à la coloration des noyaux tout à fait comparables à ceux des Flagellés normaux et des corps leishmaniens non flagellés.



1, 2, 3, 4. — Formes cultivées sur anti-sérum.

1, 2. — Masses syncytiales avec nombreuses vacuoles et noyaux.

3. — Grande forme hypertrophiée et très vacuolisée.

4. — Groupe de quelques leishmanies vacuolisées.

Lorsqu'on repique des cultures à forme ainsi modifiées et hypertrophiées et en apparence dégénérées sur des milieux habituels, on obtient des cultures d'aspect tout à fait sain et on ne trouve plus trace

d'altération ni d'hypertrophie. Ces cultures redeviennent normales à tous les points de vue. Toutes ces modifications intimes dans la structure des parasites sont donc, d'une façon évidente, en relation avec l'action spécifique du sérum agglutinant.

Des *Leishmania ceramodactyli*, *L. infantum* (souche de M. MESNIL de l'Institut Pasteur de Paris), *L. caninum*, *L. donovani*, *L. tarentolæ*, *L. tropica* et une autre souche *L. tarentolæ* de Tunis, ensemencés sur milieu au sérum anti *L. agamæ* et incubés à 25°C donnèrent tous des cultures riches, d'aspect macroscopique normal. Dans presque toutes, on voyait, au microscope de petits groupes formés de flagellés agglutinés par leurs flagelles, mais jamais modifiés dans leur structure ou dans leur taille et ayant tous l'aspect de Flagellés cultivés normalement. Cette légère agglutination microscopique, sans aucune modification cellulaire, n'est point significative, car elle n'est nullement spécifique et peut être obtenue par différents facteurs physiques ou chimiques (température au-dessus de 30°C, acidité trop forte, etc...), étant donné la grande sensibilité individuelle des *Leishmania* aux modifications des conditions ou des milieux de culture. Il n'y a donc aucune agglutinine commune à tous ces différents *Leishmania* avec le *Leishmania agamæ*. Et, malgré la grande ressemblance des formes hypertrophiées de *L. agamæ*, sur anti-sérum correspondant, et celles de *L. ceramodactyli*, cultivées dans les mêmes conditions, la position postérieure — avec tendance à devenir antérieure dans le canal alimentaire des Phlébotomes — commune à ces deux espèces, ces *Leishmania* restent cependant bien distincts, ne présentant pas d'agglutinine commune.

Le *L. ceramodactyli* cultive très normalement sur du milieu au sérum anti *L. agamæ*, et inversement, le *L. agamæ* donne des cultures d'aspect macroscopiquement et cytologiquement normal sur milieu avec du sérum anti *L. ceramodactyli*.

ACTION PATHOGENE

Toutes les tentatives d'inoculation aux souris, animaux sensibles aux *Leishmanias*, et même aux lézards sains, ont malheureusement échoué comme en témoignent les procès-verbaux des expériences suivantes :

Expérience I.

Deux lézards gris de Tibériade apportés au laboratoire le 6 Décembre 1928, dont le sang est prélevé par ponction cardiaque le 10 suivant et ensemencé sur milieu approprié, se montrent exempts d'infection leishmanienne. Le 7 février ils reçoivent dans le péritoine 0,5 cc. de culture de 9 jours (première subculture). La culture de leur sang, refaite le 25 mars, reste négative.

Expérience II.

Un lézard gris de Jérusalem apporté au laboratoire le 1^{er} janvier 1928, éprouvé négatif par hémoculture le 10 suivant, reçoit, le 7 février, 0,5 cc. d'une première subculture de *L. agamæ* dans le péritoine. Le 6 mars il est amaigri, se meut à peine, ses yeux sont clos; il est sacrifié; son sang prélevé pour culture donne de nombreuses bactéries; l'examen des frottis du foie, du poumon, de la moelle osseuse et du sang, ainsi que des gouttes épaisses, ne révèlent l'existence d'aucun microbe. A l'autopsie, l'aspect de tous les organes est normal.

Expérience III.

Un lézard gris de Tibériade, éprouvé par culture du sang cardiaque, se montrant négatif le 31 décembre 1928, est inoculé le 3 janvier 1929 dans le péritoine avec 1,5 cc. de sang citraté d'un lézard infecté naturellement. Le 23 janvier il est ponctionné et le sang ensemencé sur milieu Locke-agar-sang ne donne pas de flagellés. Le 4 février il est trouvé mort. A l'examen des frottis d'organes et du sang on voit de nombreuses bactéries.

Expérience IV.

Deux lézards gris de Tibériade qui, à l'hémoculture, donnent des résultats négatifs le 24 mars 1929, sont inoculés chacun dans les muscles de la cuisse le 25 suivant, avec 2 cc. de sang citraté (1) de lézard parasité. Ils sont ponctionnés le 9 avril et ne donnent pas de Flagellés à la culture. Pas de lésions locales. Le 15 avril l'un des deux est sacrifié. Rien d'anormal à l'autopsie. Examen des frottis du foie, des poumons, du rein, de la moelle osseuse, des parois et contenu intestinaux et du sang : tout est négatif. Il en fut de même pour le second, sacrifié à son tour le 20 avril. La culture du sang donne des résultats négatifs.

Expérience V.

Deux lézards de Tibériade, reconnus négatifs le 8 juin 1928, sont inoculés dans le cœur avec de petites quantités de sang citraté d'un lézard infecté. Tous deux succombent. Les essais d'inoculation cardiaque recommencées sur d'autres individus sains ne sont pas couronnés de plus de succès.

(1) Une solution isotonique de citrate de soude n'est nullement nocive, aux *Leishmonia*.

Expérience VI.

Trois lézards de Tibériade, apportés au laboratoire le 6 mai 1929, sont éprouvés par culture et reconnus exempts d'infection leishmanienne le 2 juin; sont nourris quotidiennement, à partir de cette date, avec de très grandes quantités de cultures riches de *L. agamæ* durant 10 jours et plus; ils sont sacrifiés respectivement les 12, 16 et 20 juin. Dans tous ces cas, la culture, les examens des frottis d'organes, de la moelle osseuse, du contenu et de la paroi intestinaux se révèlent négatifs.

Expérience VII.

Quatre souris blanches sont inoculées dans le péritoine le 5 mars 1929 avec 2 cc. de culture riche de première génération de *L. agamæ*. Une d'elles est sacrifiée le 7 mars; aucun parasite n'est retrouvé dans la sérosité péritonéale; l'aspect de tous les organes est tout à fait normal. Les cultures du sang et les examens en frottis et gouttes épaisses des 3 autres souris, 3 semaines après l'inoculation, donnent des résultats négatifs.

Expérience VIII.

Six souris blanches sont inoculées le 3 janvier 1929 avec du sang citraté d'un lézard parasité. Le 6, deux d'entre elles meurent de péritonite. Aucune autre lésion n'est visible. Les quatre survivantes ne présentent aucune anomalie à l'autopsie, lorsque sacrifiées après deux semaines, un mois, six semaines et deux mois respectivement.

Expérience IX.

Trois souris blanches reçoivent sous la peau de la queue (méthode de Parrot et Donatien, 1927) du sang

citraté d'un lézard parasité le 8 mai 1929. La queue est scarifiée après l'inoculation au moyen d'un scalpel ou d'une pointe métallique tranchante (ce qui, d'après Adler, faciliterait l'infection). Toutes ces souris guérissent de leur blessure; les queues reprennent leur aspect normal et pas une seule lésion locale n'est visible, même deux mois après.

Le même jour, deux souris blanches sont inoculées dans la queue, l'une avec une culture riche et jeune, l'autre avec une culture de 22 jours. L'inoculation est faite de la même façon, c'est-à-dire suivie de scarification. Comme les 3 précédentes, les souris ne présentent aucune lésion locale.

Plusieurs autres inoculations de lézards avec différentes quantités de cultures riches dans le péritoine, muscles des cuisses ou sous la peau, ne donnent pas de résultats positifs.

En résumé, ni par voie digestive, ni par voie sanguine ou péritonéale, soit avec des cultures jeunes ou vieilles, soit avec du sang d'animaux parasités, je ne suis arrivée à produire des lésions, des désordres même une simple infection d'aucune sorte chez des lézards antérieurement indemnes.

Ce parasite ne semble pas être pathogène pour les souris blanches.

Les animaux naturellement infectés de *L. agamæ* ne présentent aucune lésion ou modification des organes qui gardent tous leur aspect normal; on n'arrive point à distinguer les individus infectés des individus indemnes; comme eux ils ont bon appétit, se meuvent aussi rapidement et ne semblent aucunement incommodés par la présence des parasites dans leur sang.

Le *Leishmania agamæ* ne paraît pas être pathogène même pour les lézards. Il est présent dans leur sang

d'où je suis arrivée à l'isoler, mais là même, en très petit nombre, car, malgré les nombreux examens minutieux du sang d'individus infectés, en frottis et gouttes épaisses colorés par la méthode de Romanowsky, je n'ai vu qu'une seule fois des corps leishmaniens typiques, englobés dans un leucocyte mononucléaire.

Ces résultats négatifs sont analogues à ceux obtenus par MM. E. CHATTON et E. BLANC (1919) avec le *L. tarentolæ* du gecko *Tarentola mauritanica*. Ces savants résument leurs expériences en des termes suivants :

« Le *Leptomonas* produit donc chez les geckos une infection occulte qui ne peut être reconnue que par la mise en culture du sang ou des organes ».

Je devrai pourtant signaler l'existence des « corps leishmaniformes » que ces mêmes auteurs ont décrit antérieurement (1913) dans les hémato blastses du gecko *Tarentola mauritanica*, mais ces corps n'ayant jamais été revu depuis et jamais rencontré chez des geckos sûrement infectés de *Leishmania*, les auteurs ne croient pas avoir établi leur identité et leur rapport avec l'infection leishmanienne de la tarente.

ADLER et THÉODOR (1929), également, décrivant le *Leishmania ceramodactyli* révélé par culture du sang cardiaque du gecko *Ceramodactylus doriae*, ne constatent, à l'examen direct du sang ou des organes d'animaux parasités, la présence d'aucun élément pouvant se rapporter aux parasites obtenus en culture.

Ces échecs complets et réitérés de toutes les tentatives d'infection, même des lézards, par différentes voies d'inoculation et divers matériaux infectés, font logiquement supposer que des formes métacycliques,

seules infectantes, y étaient absentes. Ce qui implique l'existence d'un hôte intermédiaire, d'ailleurs de règle pour tous les *Leishmania*, où cette évolution devrait obligatoirement se faire.

Cet hôte encore inconnu est à rechercher. J'ai pensé soit à un acarien *Hyaloma syriacum*, soit à une petite larve d'acarien *Thrombicula agamæ* M. ANDRÉ, dont j'ai constaté la présence en très grand nombre autour des orbites, trous auriculaires, plis du cou et des épaules et coins des mâchoires de tous les lézards capturés à partir du mois de juin. Malheureusement, à partir de cette époque, pas un lézard ne donnait de *Leishmania* à l'hémoculture; ils se montraient tous exempts de flagellés.

D'autre part l'examen de ces acariens écrasés entre lame et lamelle n'a pas révélé non plus l'existence de *Leptomonas*.

Ces faits, évidemment, ne sont pas probants et la question reste entièrement à étudier.

DISCUSSION et CONCLUSIONS

Il ressort des considérations précédentes, les faits suivants :

1° Les flagellés isolés du sang des lézards gris produisent un antisérum agglutinant bien spécifique et sans action sur d'autres espèces de *Leishmania*, même les plus rapprochées, ainsi que l'absence totale de toute agglutination croisée;

2° Des corps leishmaniens typiques trouvés, dans un leucocyte du sang d'un lézard ont fourni une hémoculture riche en flagellés;

3° La présence des formes allongées dans les subcultures des générations avancées, ayant jusqu'à 28 μ de long;

4° La température optima pour le développement de ce flagellé est de 30°C, tandis que la plus favorable pour le développement des autres *Leishmania* connus est de 22°-28°C;

5° La position qu'adoptent ces flagellés dans le canal alimentaire des Phlébotomes, est le plus souvent *postérieure*, avec une tendance cependant à devenir *antérieure*, en cela comparable au *Leishmania ceramodactyli* à l'encontre de *L. tropica*, *L. donovani*, *L. infantum*, *L. caninum*, *L. brasiliensis*, *L. tarentolæ* qui adoptent tous une position *antérieure*.

On peut donc en conclure que le flagellé isolé du sang des lézards gris, est un *Leishmania* d'une espèce nouvelle et non caractérisée encore. J'ai proposé, pour lui, le nom de *Leishmania agamæ* étant parasite de *Agama stellio*.

Le *Leishmania agamæ*, tout en ayant des caractères communs avec le *Leishmania ceramodactyli*, s'en distingue pourtant par l'absence complète de toute agglutinine commune avec ce dernier.

Cette nouvelle espèce de *Leishmania* est très intéressante du point de vue théorique. C'est un *Leishmania* non pathogène même pour son propre hôte. Il forme un stade de passage entre les *Herpetomonas*, parasites propres aux insectes et les *Leishmania* adaptés à l'organisme des Vertébrés.

Avant d'insister sur ce point, je dois donner un aperçu général sur la théorie d'adaptation des Flagellés d'Insectes aux Vertébrés.

L'origine de tous les *Leishmania* parasites de l'homme et des animaux serait à rechercher dans les Flagellés infestant le canal alimentaire de beaucoup d'insectes. Les *Herpetomonas* parasites de ces derniers se transmettent d'un hôte à l'autre par l'intermédiaire des formes enkystées, éliminées avec les selles et ingérées aux stades larvaires. Leur localisation dans le conduit alimentaire des insectes est *postérieure*. Ne se trouvant pas dans la partie antérieure de celui-ci, ils ne peuvent être extériorisée par voie buccale.

Des insectes infestés sont avalés par des Vertébrés insectivores; il y aurait là une adaptation possible à l'organisation de ces derniers. Les Flagellés ne seraient au début que de passage accidentel dans l'intestin de ces animaux à titre de parasites coprozoïques. Puis, avec le temps, il se formerait un lien plus intime entre ces parasites et les parois de l'intestin de l'hôte; il se constituerait un parasitisme vrai avec adhésion des Flagellés aux tissus mêmes de l'intestin. Par la suite, il y aurait passage dans le sang et les organes et adaptation évoluée suivie même de

modifications morphologiques et forcément biologiques, comme toujours dans le cas de parasitisme avancé. Les Flagellés peuvent perdre même leur élément le plus caractéristique, leur flagelle, et sont alors transformés en ce que l'on nomme corps leishmaniens, pouvant redonner à la culture ou dans l'organisme d'un insecte approprié, des formes *Leptomonas* comparables aux Flagellés des insectes d'où nous sommes partis.

On pourrait même apporter quelques faits à l'appui de cette manière de voir.

Le *Leishmania cameleonis* est trouvé par WENYON et BAYON infectant seulement le cloaque et l'intestin postérieur du Caméléon vulgaire, le sang de cet animal étant totalement exempt des parasites de ce genre.

LÉGER trouve le *Leishmania henrici* dans l'intestin d'un lézard du genre *Anolis* et met également en évidence des *Leptomonas* dans le sang du même animal.

FRANCHINI, à son tour, signale l'existence d'une infection double semblable chez les *Chalcides*. Dans ces cas, le passage des parasites de l'intestin au sang est fort vraisemblable.

D'autre part, le *Leishmania ceramodactyli* et son proche voisin le *L. agamæ*, ne se trouvent que dans le sang de leurs hôtes sauriens. Là, l'évolution est plus avancée et ils formeraient tous deux un stade intermédiaire entre les *Leishmania* non pathogènes *L. cameleonis* et *L. henrici* et tous les *Leishmania* qui causent des affections cutanées ou viscérales chez les vertébrés. Ces deux premiers *Leishmania* sont cependant moins évolués que le *L. tarentolæ*, parasite non pathogène du Gecko, car, dans le canal alimentaire des phlébotomes, ils ont une localisation postérieure avec tendance faible à devenir antérieure,

cette dernière position, par contre, étant exclusivement de règle pour le *Leishmania* de la Tarente, fait, qui le rapproche davantage des *Leishmania* pathogènes où l'infection des vertébrés se fait uniquement par piqûre inoculatrice de l'invertébré. Il y aurait donc plus d'affinité entre le *L. ceramodactyli* et *L. agamæ* avec les *Herpetomonas* des insectes, qu'entre ces derniers Flagellés et le *L. tarentolæ*. Cependant, ils sont déjà beaucoup avancés dans la série; ils ne présentent plus de kystes et le passage d'un hôte à l'autre doit obligatoirement se faire par piqûre (1). Ils sont parasites des Vertébrés, mais l'intervention d'un insecte hématophage s'impose pour leur servir de véhicule. Mais ce fait devient encore plus évident, lorsqu'on observe la localisation du *L. tarentolæ* et tous les *Leishmania* pathogènes pour l'homme et les animaux dans l'intestin du Phlébotome.

On voit donc que l'évolution s'est faite très progressivement et des *Herpetomonas* d'insectes on arrive, en suivant la série, aux *L. tropica* et *L. donovani*, parasites propres aux Vertébrés. Ceux-ci doivent obligatoirement passer par un Insecte à un moment donné de leur cycle évolutif.

Le *L. agamæ* se place donc à côté du *L. ceramodactyli*, entre les *Herpetomonas* d'Insectes et les *Leishmania* pathogènes des Vertébrés. Il doit exister sans doute beaucoup d'autres *Leishmania* également évolués chez d'autres animaux insectivores et il est à prévoir que de nouvelles espèces sont encore à étudier. Il serait intéressant de cultiver au point

(1) Il faut signaler la possibilité d'infestation des vertébrés par l'ingestion de l'invertébré infesté, à l'instar du mode de transmission du *Trypanosoma Lewisi* du rat, ou ce dernier prend l'infection soit en avalant, les puces véhiculant ce parasite d'un hôte à l'autre, soit en léchant la peau sur laquelle les puces ont déposé leurs excréments, contenant des trypanosomes.

de vue infection leishmaniennes, le sang de tous les animaux insectivores et le champ des recherches est ouvert.

Avant de terminer cet exposé, qu'il me soit permis de rappeler la dette de reconnaissance que j'ai contractée envers mon Maître, le Professeur S. ADLER, de l'Université hébraïque de Jérusalem, qui a inspiré et guidé ce travail et m'a toujours réservé un accueil plein de bienveillance et d'intérêt.

Je me souviens également de l'aide amicale et précieuse de M. le Docteur O. THÉODOR, collaborateur du Professeur ADLER, et lui exprime ma gratitude.

Je remercie aussi MM. les assistants du laboratoire de Parasitologie de l'Université de Jérusalem pour leur attitude très cordiale.

Ma profonde et sincère reconnaissance à tous mes Maîtres de la Faculté des Sciences de Paris et particulièrement à M. le Professeur CAULLERY, pour leur enseignement qui a développé en moi l'amour de la Science et le goût des recherches scientifiques.

Travail fait au laboratoire de Parasitologie de l'Institut microbiologique de l'Université hébraïque de Jérusalem.

Vu et approuvé :

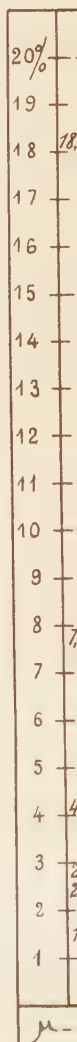
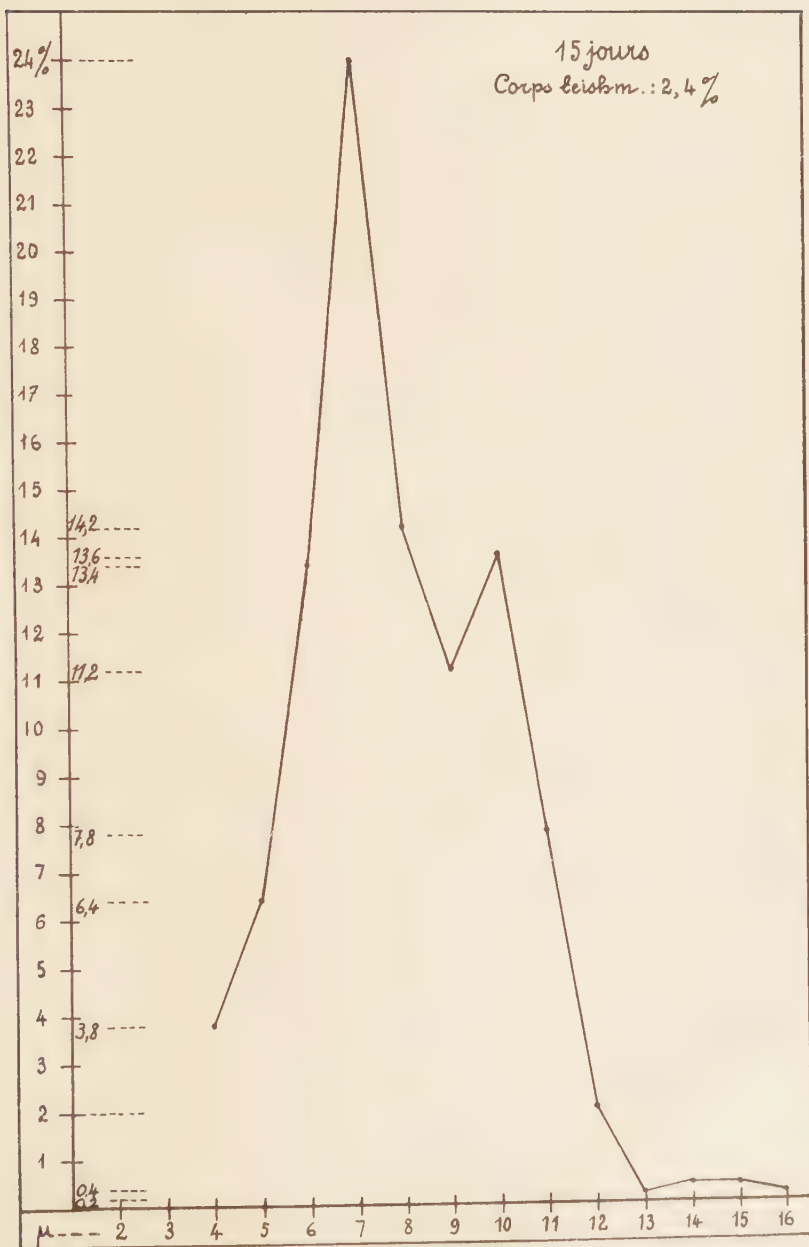
Le Doyen de la Faculté ds Sciences,

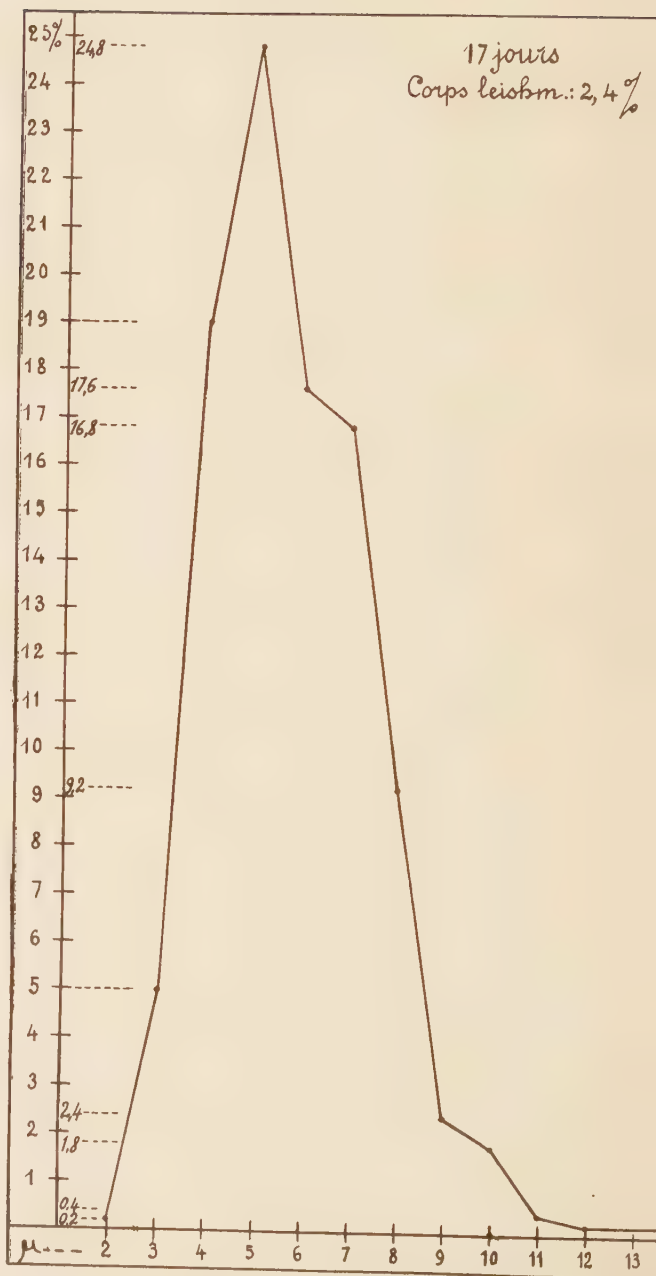
A. MAURAIN

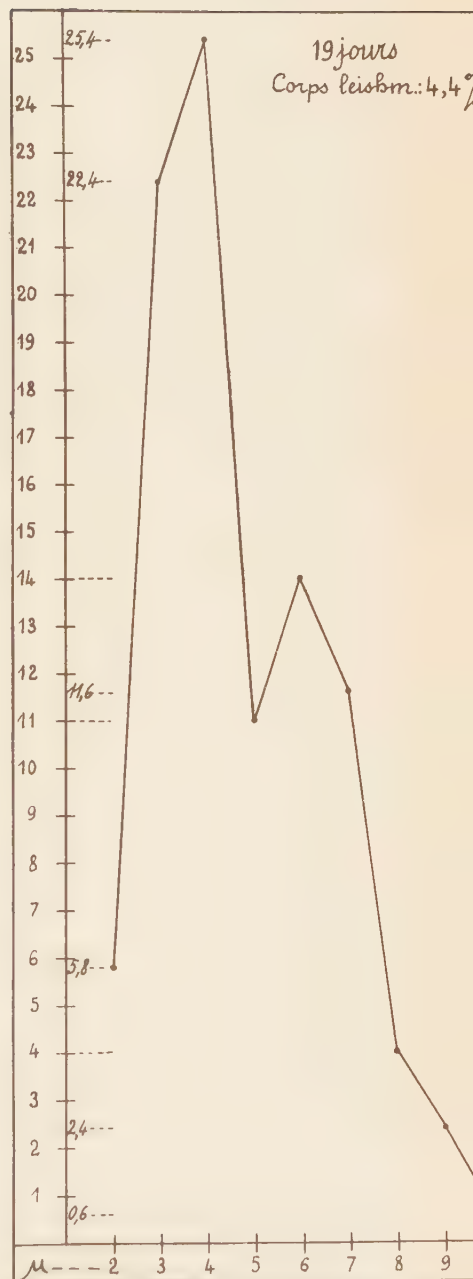
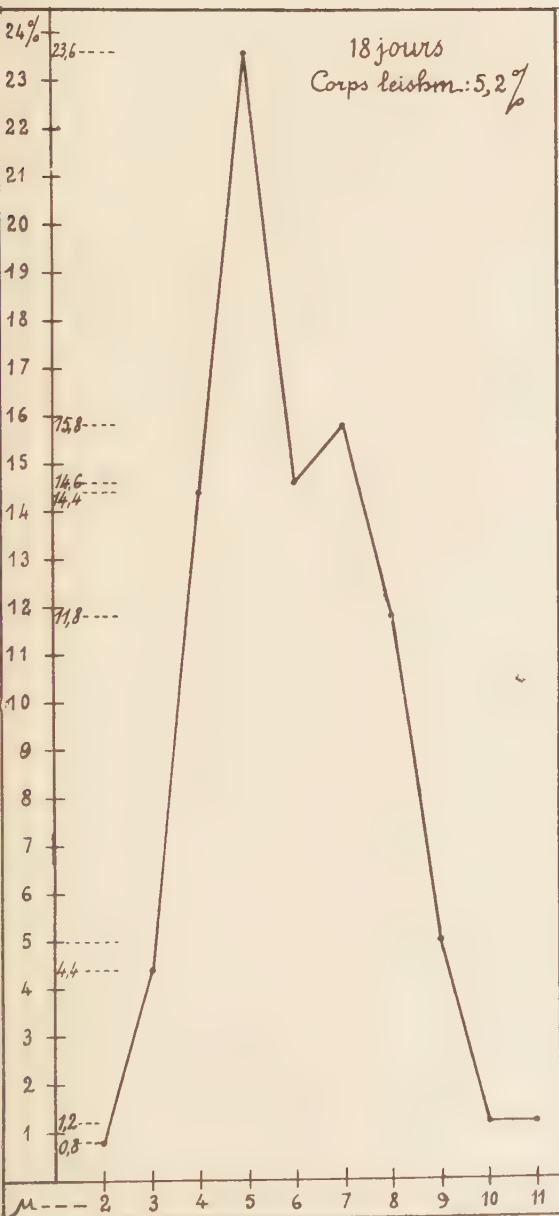
Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

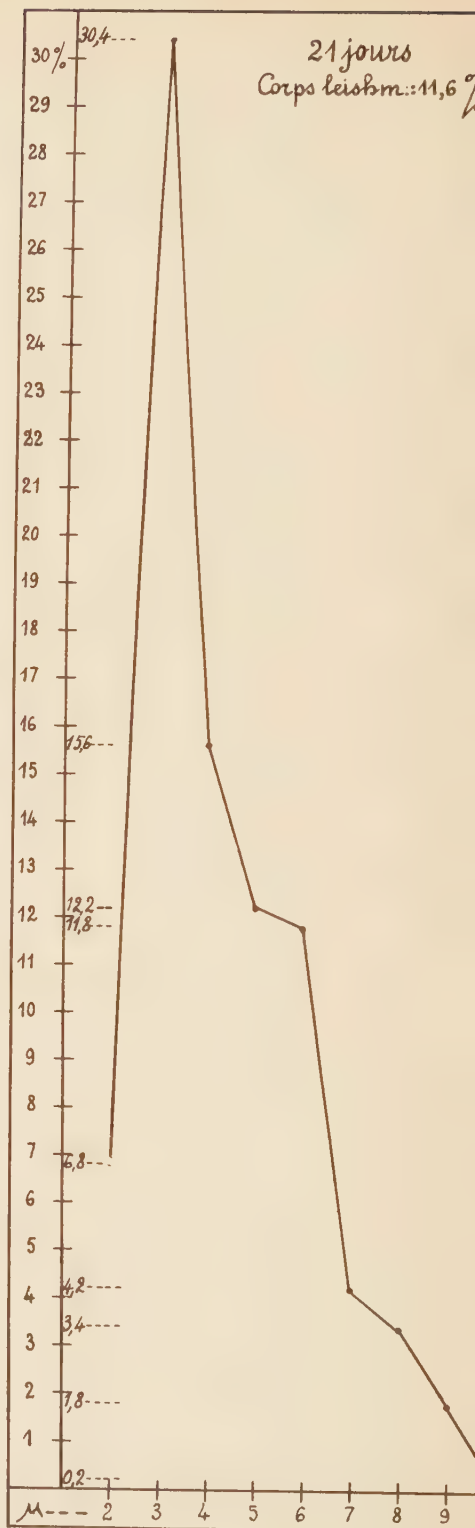
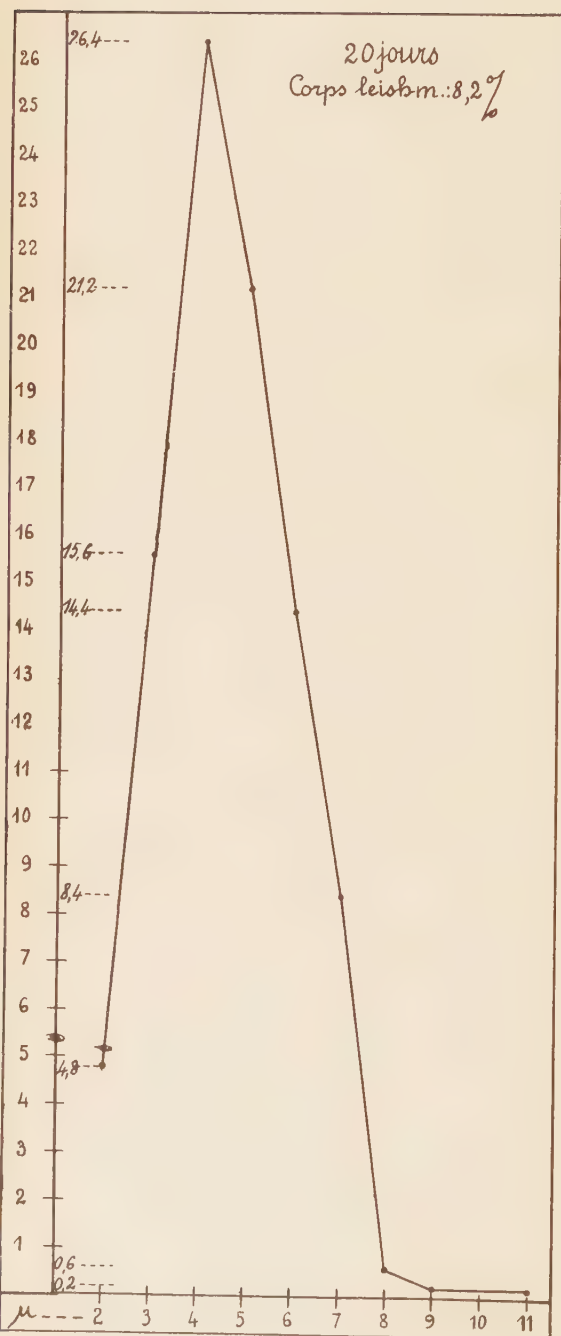
S. CHARLÉTY.

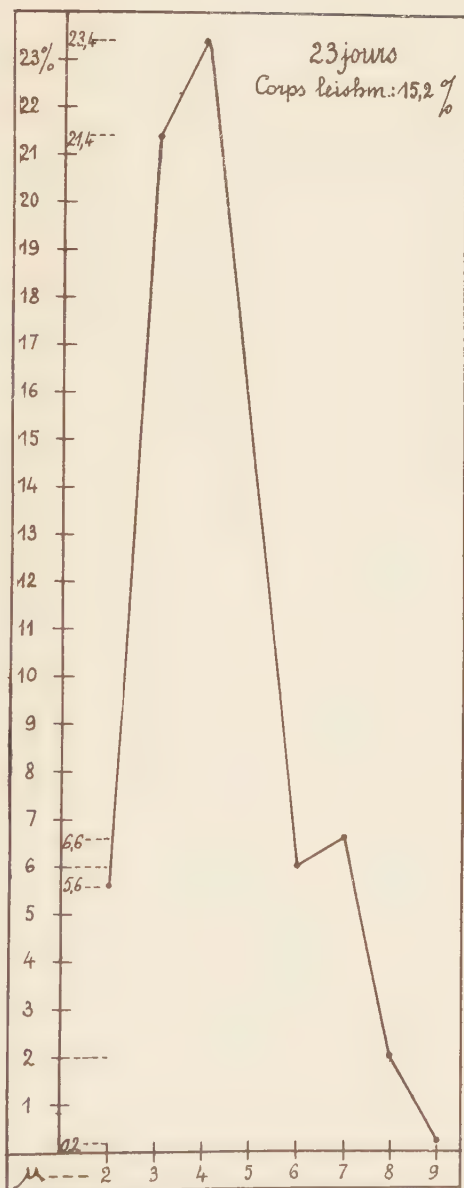
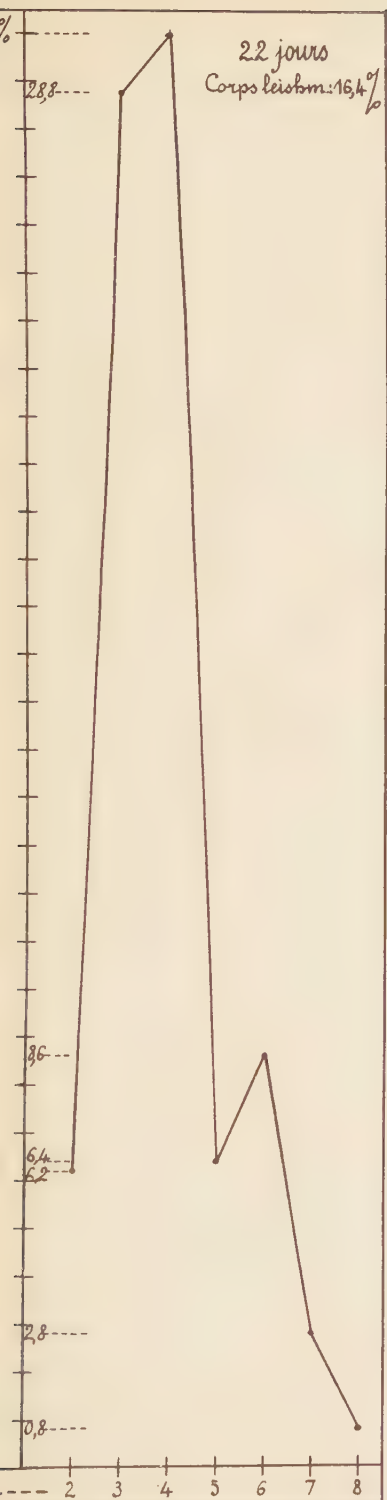






Culture de première génération





BIBLIOGRAPHIE

- ADLER S. and THEODOR O. (1926). — The Identity of *Leishmania tropica* Wright 1903 and *Herpetomonas papatasi* Adler 19025.
Ann. Trop. Med. et Paras. XX (4) 355.
- ADLER S. and THEODOR O. (1927). — The behaviour of cultures of *Leishmania* sp. in *Phlebotomus papatasi*.
Ann. Trop. Med. et Paras. XXI (2) 111.
- ADLER S. and THEODOR O. (1929). — Observations on *Leishmania ceramodactyli* n. sp.
Trans. of the Roy. Soc. Trop. Med. et Hyg., t. XXII (4); 343-336.
- ADIE A. H. (1921). — Preliminary note on the development of the *Leishmania donovani* parasite in spleen juice and in the alimentary tract of cimex *Lectularius*.
Ind. Journ. Med. Res., t. IX, 2.
- BAYON H. (1915). — *Herpetomonidae* found in *Scatophaga hothentota* and *Chameleon pumilus*.
Trans. Roy. Soc. S. Africa., t. 61.
- BECKER E. R. (1923). — Studies on the relationship between insect flagellates and *Leishmania*.
Ann. Am. soc. Hyg., t. III (4).
- BLANC G. et CAMINOPETROS S. (1921). — Enquête sur le Bouton d'Orient en Crète. Réflexions qu'elle suggère sur l'étiologie et le mode de dispersion de cette maladie.
Ann. Inst. Pasteur, t. XXXV, 251.
- BRUMPT E. — Précis de Parasitologie.
Masson, Paris 1928.
- CHATTON E. et BLANC G. (1914). — Sur un hématozoaire nouveau, *Pirehémocytton tarentolae* du Gecko *Tarentola mauritanica*, et sur les altérations globulaires qu'il détermine.
C. R. Soc. Biol., t. LXXVII, 436.

- CHATTON E. et BLANC G. (1914). — Existence de corps leishmaniformes dans les hémato blastses d'un Gecko barbaresque. *Tarentola mauritanica* L. Gunth.
Comp. Rend. Soc. Biol. LXXVII, 430.
- CHATTON E. (1914). — Le Bouton d'Orient (clou de Gafsa) dans le Djerid. Ses relations avec les faciès rupestres du sol.
Bull. Soc. Path. Exot., t. VII, 30-35.
- CHATTON E. et BLANC G. (1918). — Le *Leptomonas* de la Tarente dans une région indemne de Bouton d'Orient. Observations et Expériences.
Bull. Soc. Path. Exot., t. XI (4) 595.
- CHATTON E. et BLANC G. (1919). — Inoculations positives de cultures de *Leishmania tropica* aux Geckos.
Bull. Soc. Path. Exot., t. XII (6). 316.
- CUNNINGHAM D. D. (1885). — On the presence of peculiar parasitic organism in the tissues of a specimen of Delhi boil.
Scient. Mem. Med. Off. Army India, t. I, 21.
- DAVID A. (1929). — Note préliminaire sur un *Leishmania* trouvé chez le lézard gris de la région de Tibériade. (Basse Galilée, Palestine).
Ann. Paras. Hum. Comp., t. VII, (3).
- DONOVAN C. (1903). — The aetiology of the heterogeneous fevers in India.
Brit. Med. Journ., t. II, 1401.
- FANTHAM H. B. et PORTER A. (1915). — On the natural occurrence of Herpetomonads (Leptomonads) in mice.
Parasitology, t. VIII, 128.
- FANTHAM H. B. et PORTER A. (1916). — The significance of certain naturel flagellates of insects in the evolution of disease in vertebrates.
Journ. Paras. t. II, 149-166.
- FANTHAM H. B. et PORTER A. (1920). — On the natural occurrence of Herpetomonads (Leptomonads) in the blood of a fish *Dentix argyrosoma*, and its significance.
Journ. Paras., t. VII, 16.
- FIRTH R. H. (1891). — Notes on the appearance of certain sporozoïd bodies in the protoplasm of an oriental sore.
Brit. Med. Journ., t. I, 60.

- FRANÇA C. (1926). — Quelques considérations sur les *Leishmania*.
Mém. Etudes Mus. Zool. Univ. de Columbia. Série II,
N° 2.
- FRANCHINI G. (1923). — Action du latex d'Euphorbes sur différents trypanosomes. Cultures de flagellés dans des latex divers.
Bull. Soc. Path. Exot. t. XVI (1).
- FRANCHINI G. (1921). — Sur les flagellés intestinaux du type *Herpetomonas* du Caméléon vulgaires et leur culture et sur les flagellés du type *Herpetomonas* de *Chalcides* (*Congylus*) *ocellatus* et *Tarentola mauritanica*.
Bull. Soc. Path. Exot., t. XIV, 641.
- FRANCHINI G. (1922). Particularités de culture de certains flagellés. De la culture des *Leishmania* dans le milieu de Yoshida.
Bull. Soc. Path. Exot., t. XV, (7).
- FRANCHINI G. (1923). — Sur un Protozoaire d'Euphorbia areiformis et sur sa culture.
Bull. Soc. Path. Exot., t. XVI, (9).
- HANNIBAL E. et KOCH D. T. (1926). — The biological relationship between *Leishmania* and certain *Herpetomonas*.
Un. of Calif. Public in Zool., t. XXVIII, N° 20, p. 265-338.
- HINDLE E. et THOMSON J. C. (1928). — *Leishmania infantum* in chinese Hamsters.
Proc. Roy. Soc. B Vol. 103.
- KLIGLER I. J. (1925). — The cultural and serological relationship of *Leishmania*.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg., t. XIX, (5) 556-330.
- LAVERAN A. — Leishmaniose., Masson, Paris 1917.
- LAVERAN A. et MESNIL. — Trypanosomes et Trypanosomiasés. (Masson, édit. Paris 1912).
- LAVERAN A. et MESNIL (1903). — Démonstrations par Laveran.
Bull. Acad. Méd. L 238.
- LAVERAN A. et MESNIL (1903). — Sur un Protozoaire nouveau (*Piroplasma donovani* Lav. et Mesn.) parasite d'une fièvre de l'Inde.
C. R. Ac. Sc. t. CXXXVII, 957.

- LAVERAN A. et FRANCHINI G. (1919). — Au sujet de *l'Herpetomonas oënocephali* de la puce du chien et de sa culture.
Bull. Soc. Path. Exot., t. XII, (6).
- LAVERAN A. et FRANCHINI G. (1921). — Des hématozoaires du gecko et spécialement des *Herpetomonas tarentolæ*.
 Procédé simple de culture des *Herpetomonas*.
Bull. Soc. Path. Exot., t. XIV, (6).
- LAVERAN et FRANCHINI G. (1921). — Procédés simples de culture des *Leptomonas*.
C. R. Ac. Sc., t. XIV, 323.
- LEGER M. (1918). — Infection sanguine par *Leptomonas* chez un saurien.
C. R. Soc. Biol., t. LXXXI, 772.
- LEISHMAN W. B. (1903). — On the possibility of the occurrence of Trypanosomiasis in India.
Brit. Med. Journ., t. I, 1252.
- MACKIE F. P., GUPTA B. M. S., SWAMITH C. S. (1923). — Progress Report on Kala-Azar.
Ind. Journ. Med. Res., t. XI, 591.
- MATHIS C. (1911). — Cultures de *Leishmania infantum* et *L. tropica* sur milieux au sang chauffés.
C. R. Séances Soc. Biol., t. LXXI, 538.
- MARCHAND (1904). — Über neue Protozoeninfektion beim Menschen, *Münich Med. Voch.*, t. LI, 630.
- MESNIL F. (1913). — Maladies infectieuses et invertébrés transmetteurs.
Bull. Inst. Past. XV, N° 5 et 6.
- NICOLLE C. et SICRE (1908). — Recherches sur le Bouton d'Orient. 2. Isolement et culture des parasites du Bouton d'Orient.
Arch. Inst. Pasteur. Tunis. t. III, 117.
- NICOLLE Ch. (1908). — Culture du parasite du Bouton d'Orient.
C. R. Ac. Sc., t. CXLVI, 842.
- NICOLLE CH. (1908). — Culture des corps de *Leishman* isolés de la rate dans trois cas d'anémie splénique infantile.
Bull. Soc. Path. Exot. I, 121.
- NICOLLE CH., BLANC G. et LANGERON (1920). — Recherches

- expérimentales sur le rôle du gecko dans l'étiologie du Bouton d'Orient.
Bull. Soc. Path. Exot., t. XIII, 508.
- NOGUCHI H. (1924). — Action of certain biological, chemical and physical agents upon cultures of *Leishmania*. Some observations on plant and Insect Herpetomonads.
Proc. Int. Conf. on Health Trop. Amer., Boston, 455.
- NOGUCHI H. and LINBERG A. (1925). — The Isolation and maintenance of *Leishmania* on the medium employed for the cultivation of organism of the *Leptospira* group of spirochaetes.
Amer. Journ. Trop. Med., t. V, f. 1, p. 63-67.
- NOGUCHI H. (1926). — Comparative studies of Herpetomonads and *Leishmania*.
Journ. Exp. Med., t. XLIV, (3) 307-337.
- NOGUCHI H., TILDEN E. B. (1926). — Comparative studies of Herpetomonads and Leishmanias, I Cultivation of Herpetomonads from Insects and plants.
Journ. Exp. Med., t. XLIV (3) 307.
- NOLLER W. — Die Zuchtung der parasitischen Protozoen., p. 1860.
- PARROT L. et LESTOQUARD (1925). — Sur quelques détails de la structure des *Leishmanias*.
Bul. Soc. Path. Exot., N° 7.
- PARROT et DONATIEN (1927). — Le parasite du Bouton d'Orient chez le phlébotome. Infection naturelle et infection expérimentale de *Phlebotomus papatasi*.
Arch. Inst. Pasteur d'Algérie, t. V, 9.
- ROGERS L. (1904). — Preliminary note on the development of *Trypanosoma* in culture of the Cunningham Leishman donovan bodies of cachexial fever and kala-azar.
Lancet, t. II, 215.
- ROSS R. (1903). — Note on the bodies recently described by Leishman and donovan. II. Further notes on Leishman's bodies.
Brit. Med. Journ., t. II, 1261, 1401.
- ROUBAUD E. et FRANCHINI G. (1923). — Cultures des parasites leishmaniformes chez la souris par inoculation des fèces de la puce *Ctenopsylla musculi*.
Bull. Soc. Path. Exot., t. XVI, f. 1.

- SERGEANT ED. et ET. (1905). — Sur un culicide nouveau très commun à Biskra (*Grabhamia subtilis*).
Comp. Rend. Soc. Biol. LVIII, 673.
- SERGEANT ED. et ET., LEMAIRE G. et SENEVET G. (1915). — Hypothèse sur le phlébotome transmetteur et la tarente réservoir du virus du Bouton d'Orient.
Ann. Inst. Pasteur, t. XXIX, 309.
- SERGEANT ED. et ET., PARRET, DONATIEN et BEGUET (1921). — Transmission du clou de Biskra par le *Phlebotome* (*Phlebotomus papatasi* Sop.).
Comp. Rend. Acad. Sci. CLXXIII 1030.
- STRONG R. P. (1924). — Investigation upon flagellate infections.
Amer. Journ. Trop. Med., t. IV, 345.
- VERDIER F. (1908). — Les Leishmanioses.
Ollier et Henri et Cie, édit. Paris.
- WAGENER E. E. et KOCH D. A. (1926). — The biological relationship of Leishmania and certain Herpetomonads.
Univ. Calif. Publ. Zool., t. XXVIII, 365.
- WENYON C. M. (1928). — Protozoology.
Baillière, Tindall and C°, London 1926, t. I, 312-444.
- WENYON C. M. (1922). — Leishmaniasis, a review of recent literature.
Trop. Dis. Bull., t. XIX, f. 1., p. 1-18 and N° 3, 182, 193.
- WENYON C. M. (1928). — Kala-azar and oriental sore.
Brit. Med. Journ., N° 3534.
- WRIGHT J. H. (1903). — Protozoa in a case of tropical ulcer (Delhi sore).
Journ. Med. Res., t. X, 472.

